HYDRA (HYDROZOA) ALS ENTWICKLUNGSBIOLOGISCHES MODELLSYSTEM

Beschreibung des Sexualverhaltens, Karyotypanalyse und elektronenmikroskopische Untersuchung der Oogenese

vorgelegt von

Uwe Deppe

aus Lagershausen/Han.

Göttingen 1974

HYDRA (HYDROZOA) ALS ENTWICKLUNGSBIOLOGISCHES MODELLSYSTEM

Beschreibung des Sexualverhaltens, Karyotypanalyse und elektronenmikroskopische Untersuchung der Oogenese

vorgelegt von

Uwe Deppe

aus Lagershausen/Han.

Göttingen 1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

D 7

Referent: Prof. Dr. L. Rensing

Korreferent: Prof. Dr. G. Birukow

Tag der mündlichen Prüfung: 31.10.74

INHALT

1. Einführung 1
   1.1. Systematik der Hydren 3
   1.2. Äußere Morphologie 4
   1.3. Histologie 6
   1.4. Zelldifferenzierung und Zellwanderung 7
   1.5. Morphogenese und axiale Polarität 8
2. Einleitung 9
3. Material und Methoden 12
   3.1. Tiermaterial und Zuchtmethoden 12
      3.1.1. Herkunft der Hydren 12
      3.1.2. Futter 13
      3.1.3. Kulturlösung 14
      3.1.4. Zucht 15
   3.2. Chromosomenpräparation 18
   3.3. Fixierung und Vorbereitung von Hydren bzw. Hydraeiern für die Elektronenmikroskopie 19
      3.3.1. Glutaraldehyd-Fixation 20
      3.3.2. Nachfixation und Kontrastierung mit Osmium 20
      3.3.3. Einbettung, Schneiden, Kontrastierung mit Uranylacetat und Mikroskopieren 20
4. Ergebnisse 21
   4.1. Sexualverhalten und Systematik der einheimischen Arten der Gattung Hydra. Beschreibung von zwei neuen Arten 21
      4.1.1. Hydra viridis L. (= Chlorohydra viridissima Pall.) 21
      4.1.2. Hydra fusca L. (=Hydra oligactis Sch.= Pelmatohydra oligactis Pall.) 22

4.1.3. Hydra attenuata Pall. (=Hydra vulgaris attenuata Pall.) 23
4.1.4. Hydra vulgaris Pall. (=Hydra vulgaris vulgaris Pall.) 25
4.1.5. Die circumcincta Gruppe 26
4.1.5.1. Hydra circumcincta Sch.(=Hydra stellata Sch. = Hydra ovata Boecker) 26
4.1.5.2. Hydra polygonata nov. spec. 30
4.1.5.3. Hydra autumnalis nov. spec. 33
4.1.6. Tabellarische Zusammenfassung der taxonomisch relevanten Merkmale der untersuchten und neu beschriebenen Arten 37
4.2. Mitose und Meiose bei Hydren: Chromosomenzahlen und Kernverhältnisse bei Spermio- und Oogenese 38
4.2.1. Mitotische Chromosomen bei Hydra fusca 40
4.2.1.1. Mitotische Chromosomen der Männchen von Hydra fusca 40
4.2.1.2. Mitotische Chromosomen der Weibchen von Hydra fusca 49
4.2.2. Meiotische Chromosomen bei Hydra fusca 55
4.2.2.1. Meiotische Chromosomen während der Spermiogenese 55
4.2.2.2. Meiotische Chromosomen während der Oogenese 66
4.2.3. Chromosomenverhältnisse bei weiteren untersuchten Arten 70
4.2.3.1. Mitose und Meiose bei Hydra littoralis Hyman 70
4.2.3.2. Chromosomenzahlen weiterer einheimischer Arten 74
4.2.4. Synchroner Ablauf der Mitosen 74

4.3. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Oogenese bei Hydra fusca 77
4.3.1. Sexuell nicht differenzierte Tiere 77
4.3.2. Differenzierung der I-Zellen zu Nährzellen der Eianlage 77
4.3.3. Abrundung des Eies. Bildung von Pseudozellen 82
4.3.4. Das befruchtungsfähige Ei 96
5. Diskussion 109
6. Zusammenfassung 114
7. Literaturverzeichnis 116

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534919_0021

1. EINFÜHRUNG

Die Differenzierung höherer Organismen setzt nicht nur wesentlich komplexere Regulationsphänomene als bei Mikroorganismen voraus, sondern zugleich sind grundsätzlich andere zu erwarten. Während die bei Bakterien vorhandenen zellulären Regulationsmöglichkeiten wie allosterische Inhibition, Induktion und Repression wahrscheinlich auch bei höheren Organismen eine Rolle spielen, müssen für weitere Elementarprozesse der Organismenentwicklung wie Änderung der Zellmorphologie, Zellvermehrung, -wachstum und -wanderung sowie zelluläre Interaktion andere Differenzierungsmodelle aufgestellt werden. Außerdem können die bei Bakterien bekannten Inhibitoren, Induktoren und Repressoren, die dort meist unmittelbar mit Produkten des Stoffwechsels, welchen sie kontrollieren, verbunden oder mit ihnen identisch sind, im System höherer Organismen in vollständig anderem Zusammenhang stehen.

Ein entscheidender Unterschied liegt ferner darin, daß praktisch alle bekannten bakteriellen Regulationssysteme reversibel sind, die Differenzierung höherer Organismen mit Zellen des gleichen Genoms aber normalerweise zu einem stabilen Zustand führt und meist irreversibel ist. Bei Bakterien ist die Multiplikationsrate im Selektionserfolg der Einzelzellen der entscheidende Parameter : auch bei schnell wechselnder Umgebung (reversible Regulationssysteme!) soll diese möglichst hoch bleiben. Bei höheren Organismen ist die Zellumgebung hingegen weitgehend konstant; Koordination zwischen Zellen, Geweben und Organen ist wesentlich. Ausgehend von zunächst relativ einheitlichem Gewebe entwickeln sich Gebiete unterschiedlicher Strukturen in funktioneller räumlicher Anordnung. Im Gegensatz zu den Mikroorganismen setzt die Evolution hier an zellulären Komplexen an, so daß zusätzlich andere

Regelsysteme notwendig werden. Dabei wird angenommen, daß die Bildung von morphologischen Strukturen ein Resultat der primären Verbreitung morphogener Substanzen in Feldern oder Gradienten ist (z.B. Gierer et al. 1972b).

Die Prozesse während der Differenzierung können auf der Ebene der Zelldetermination oder der Gewebsmusterbildung untersucht werden. Voraussetzung ist in jedem Falle ein geeignetes Modellsystem. Hierfür eignen sich die Hydren (Hydrozoa) aus mehreren Gründen.

Günstige Voraussetzungen sowohl für die Analyse der Zelldetermination als auch der Gewebsmusterbildung bieten diese Tiere zunächst dadurch, daß sie nur wenige Zell- und Gewebetypen besitzen. Die Morphogenese wird zudem nur durch wenige Faktoren gesteuert, so daß weniger Wechselwirkungen als bei anderen Tieren auftreten (z.B. Schaller et al. 1973).

Neben der einfachen Morphologie sind die Hydren ausgezeichnet durch relativ schnelle vegetative Vermehrung, so daß die Analyse von Mutanten dieser Tiere erleichtert wird. Die äußerlich sichtbar ablaufende Gametogenese läßt z.B. Oogenesemutanten, die neben anderen Regulationsmutanten für die Untersuchungen erfolgversprechend sind, leicht auffindbar sein. So können z.B. Oogenesemutanten, die hinsichtlich der Ausbildung des vegetativen Pols gestört sind, zur Analyse der axialen Polarität dieser Tiere dienen.

Eine weitere Besonderhiet der Hydren ist das Vorhandensein der "pluripotenten" interstitiellen Zellen (I-Zellen) im erwachsenen Zustand. Diese Zellen können zu verschiedenen Soma- und Keimzellen ausdifferenzieren. Nicht sicher ist, ob Keim- und Somazellen aus einer homogenen Zellpopulation entstehen können oder ob innerhalb der unter-

schiedlichen I-Zellen Stammzellen vorhanden sind.

Relativ gut untersucht sind bei den Hydren bisher die zellulären Interaktionen. Dagegen ist über die Oo- und Embryogenese nur wenig bekannt, unter anderem wegen sehr schlechter sexueller Reproduktion; Genetik und Chromosomenanalyse fehlen vollständig. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit werden die Hydren zu einem Modellsystem für Entwicklungsbiologie weiterentwickelt und es wird gezeigt, daß die genetische Analyse prinzipiell möglich ist.

1.1. Systematik der Hydren

Die als Untersuchungsobjekt dienenden Polypen der Gattung Hydra gehören zu den Coelenteraten, Klasse Hydrozoa, und damit zu den primitivsten Eumetazoa.

Diese Tiere sind weltweit im Süßwasser verbreitet. In einzelnen Fällen gehen sie in leicht brackiges Wasser. Im Gebiet sind sie in fast jedem Gewässer auf Pflanzen, Steinen und anderem sitzend zu finden.

In der BRD ist mit folgenden Arten zu rechnen (Kinne 1964), wobei die Systematik vor allem in älteren Arbeiten z.T. verworren ist:

attenuata Pall. (= vulgaris attenuata Pall.)

vulgaris Pall. (= vulgaris vulgaris Pall.)

viridis L. (= viridissima Pall. = Chlorohydra viridissima Pall.)

oxycnida Sch.

fusca L. (= oligactis Sch. = Pelmatohydra oligactis Pall.)

circumcincta Sch. (= stellata Sch. = ovata Boecker; Tardent 1968)

Dazu kommen die in vorliegender Arbeit neu beschriebenen Arten:

polygonata nov spec.

autumnalis nov spec.

sowie eventuell die aus Belgien beschriebene

pirardi Brien.

Insgesamt sind also ca. 9 Arten vertreten.

1.2. Äußere Morphologie

Bis auf Unterschiede in der Ausbildung der Stielregion gleichen sich alle Hydra-Arten weitgehend.

Es können morphologisch, histologisch und physiologisch (siehe Lentz, 1966) 7 distinkte Regionen am streng polaren Tier unterschieden werden (siehe halbschematische Zeichnung):

Mundfeld

Hypostom mit durchschnittlich 5 bis 8 Tentakeln

Subhypostom unmittelbar unter dem Hypostom

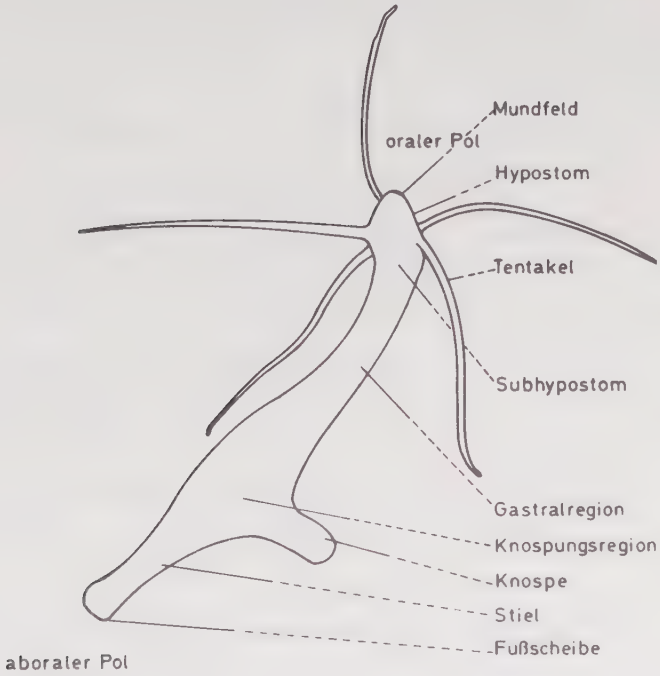
Gastralregion

Knospenregion

Stiel

Fußscheibe

Halbschematische Zeichnung
einer Hydra



Die Größe der Hydren schwankt je nach Art und Kontraktionszustand zwischen ca. 1 mm und 3 cm (ohne Tentakeln, die sich bei hungrigen Tieren über 10 cm strecken können).

1.3. Histologie

Die Körpersäule der Tiere wird von Ektodermis (Epidermis) und Entodermis (Gastrodermis) gebildet. Zwischen beiden befindet sich als ihr Ausscheidungsprodukt die zellenlose Mittellamelle oder Mesogloea. Jede der Zellagen enthält eine begrenzte Anzahl von verschiedenen Zelltypen mit charakteristischer Verbreitung über den Körper (Burnett 1968).

Zur Histologie der einzelnen Abschnitte finden sich u.a. bei Burnett (1959), Lentz (1966) und Bode et al. (1973) ausführliche Angaben. Hier sollen die Zelltypen deshalb nur benannt werden:

Ektodermis:
- Epithelmuskelzellen (Muskelfasern längs orientiert)
- Interstitielle Zellen (I-Zellen, fehlen im Hypostom, verschiedene Typen, siehe auch 4.3.)
- Nesselzellen (Nematocyten mit Nesselkapseln oder Nematocysten, verschiedene Typen, siehe auch 4.1.)
- Nervenzellen (in den unteren Teilen der Ektodermis, gehäuft im Hypostom)
- Sinneszellen
- Geschlechtszellen (Spermatogonien und Oogonien, siehe auch 2. und 4.3.)

Entodermis: (siehe auch Semal-van Gansen 1954)
- Drüsenzellen (schleimsezernierende und enzymsezernierende Typen)

Verdauungsmuskelzellen (oder Nutritivmuskelzellen, Muskelfasern quer orientiert, Flagellen und Mikrovilli ragen in den Gastralraum)

Dazu kommen wenig Neurone und I-Zellen.

Die Mesogloea dient als Stütze und Substrat für Zellberührung und Zellwanderung (Tripp 1928, Brien 1953, Burnett 1961, Shostak et al. 1968). Sie ist keine strukturlose Schicht, sondern enthält ein komplexes Maschenwerk von Fibrillen, z.T. aus collagen- und elastinähnlichen Proteinen sowie Mucopolysaccharidpartikel (Hausmann et al. 1969). In verschiedenen Körperregionen ist sie unterschiedlich und verändert sich beim Knospen. Deshalb ist sie eventuell mitbestimmend für Knospungsstellen und Zellwanderungswege (Burnett et al. 1969).

1.4. Zelldifferenzierung und Zellwanderung

Die bei Hydra vorhandenen 7 Grundtypen von Zellen (Epithelmuskelzellen, Verdauungsmuskelzellen, Nesselzellen, Nervenzellen, Drüsenzellen, Spermatogonien und Oogonien) können wahrscheinlich alle von den "pluripotenten" (embryonalen) sich teilenden I-Zellen gebildet werden. Dabei ist die Ausdifferenzierung dann erfolgt, wenn die benötigten Zellen ihre endgültige Position innerhalb der Körpersäule erreicht haben (Brien et al. 1955; Slauterback et al. 1959; Burnett 1961, 1966, 1968), wohin sie durch Zellwanderung gelangen (siehe unten).

Auch können Zelltypen der fehlenden Lage von isolierten Epi- bzw. Gastrodermen ersetzt werden (Haynes et al. 1963, Lowell et al. 1969).

Burnett (1968) postulierte aufgrund oben geschilderter Situation, daß die Zellteilung Voraussetzung für Zelldifferenzierung und Zellwanderung sei.

Mittels geeigneter Gewebestücke (z.B. von den Tentakeln) oder mit Farbstoff ist eine dauernde Zellwanderung bei Hydren nachgewiesen worden (Burnett 1959, Campbell 1967b). Sie erfolgt, obwohl unter bestimmten Bedingungen die Gestalt und Größe der Tiere konstant sind, vom Subhypostom aus. Meist werden Stücke der Epi- und Gastrodermis verlagert (Burnett et al. 1960, Shostak et al. 1965, Campbell 1969c), seltener einzelne Zellen. Dabei wandern Cnidoblasten und I-Zellen in der Epidermis, nicht in der Mesogloea (Lenhoff 1959, Diehl et al. 1966, Tardent et al. 1966). Aufgrund der Zellwanderung von Subhypostom aus stellte Burnett (1961) die Hypothese auf, daß sich dort eine Wachstumszone befinde müsse, während Campbell (1967b) u.a. wegen der überall nachzuweisenden Mitosen und des Verhaltens von markierten Stoffen ein Wachstum im gesamten Körper postulieren.

1.5. Morphogenese und axiale Polarität

Viele Befunde gibt es dafür, daß die Kontrolle der Zelldifferenzierung, Zellwanderung, Morphogenese und Erhaltung der Gestalt auf chemischem Wege erfolgt. Dabei spielen neurosekretorische Faktoren offensichtlich eine wichtige Rolle. Es sind solche für Hypostom-, Knospen- und Tentakelbildung (Lesh et al. 1964, 1966, Lentz 1965a,b, C. Schaller 1973, H. Schaller et al. 1973) nachgewiesen. Auch für die Stielinitiation liegt wahrscheinlich ein chemischer Faktor vor (Burnett 1966). Ebenso gibt es Inhibitoren z.B. für die Kopfregion (Burnett 1966, Webster 1971, Wolpert et al. 1972). Während für die axiale Polarität der Tiere auf zellulärer Ebene offensichtlich die unterschiedliche Verteilung der verschiedenen Zelltypen über die Körperregion verantwortlich ist und nicht eine Polarität der einzelnen Zellen (Gierer et al. 1972a), sind auf molekularer Ebene antiparallele Gradienten von morphogenetischen Inhibitoren als Ursache bereits früher diskutiert worden (Hyman 1928,

Goetsch 1929) und unter anderem von Wolpert (1971) und Shostak (1972) aufgegriffen. Dabei kann es sich, wie Shostak (1973) mit Serienpfropfung nachgewiesen hat, um einfache Diffusionsgradienten handeln nach dem Modell von Crick (1970), welches dieser unter Annahme von Morphogenen für die Embryogenese postuliert hat. Ein Zusammenspiel von Gradienten aktivierender und inhibierender Substanzen bei der Morphogenese fordern Gierer und Meinhardt (1972b) auch für Hydra in ihrer Theorie über "Biological Pattern Formation".

Hydren sind, nicht zuletzt durch ihr hohes Regenerationsvermögen, gekoppelt mit der Möglichkeit, zu pfropfen, besonders geeignet, solche Gradienten-Theorien experimentell zu überprüfen, umso mehr, als an den Nahtstellen der gepfropften Teile, die in bestimmter Entfernung vom Kopf bzw. Fuß liegen, sekundäre Köpfe bzw. Fußscheiben in Abhängigkeit von eben dieser Entfernung gebildet werden. Dabei spielt ATP offensichtlich eine wichtige, noch nicht genauer bestimmte Rolle (Newman 1973).

2. EINLEITUNG

Um die unter 1. angeschnittenen Fragen der Differenzierung und Morphogenese genetisch und entwicklungsphysiologisch untersuchen zu können, müssen vier Grundvoraussetzungen gegeben sein:

1. Kontinuierliche Massenzucht
2. Genaue Kenntnis des Sexualverhaltens der einzelnen Arten und seine experimentelle Beeinflussung
3. Identifikation und Analyse der Chromosomen
4. Kenntnis der morphologischen Veränderungen während Oogenese und Embryogenese

Entscheidende Fortschritte hinsichtlich der Massenzucht sind mit der Entwicklung der chemisch definierten Kulturlösung und der Zuchtmethode

nach Loomis (1953) und Loomis et al. (1956) gemacht worden. Eine Weiterentwicklung dieser Methode zu Zuchtbedingungen, bei denen Kontamination durch Mikroorganismen weitgehend ausgeschlossen ist, wird für bestimmte Stämme (z.B. bei Weibchen von Hydra fusca) sowie für andere Untersuchungen und Methoden (z.B. Zellkultur) notwendig und in vorliegender Arbeit beschrieben (siehe 3.1.).

Um die experimentelle Beeinflussung des Sexualverhaltens zu ermöglichen, d.h. unter anderem, um die dafür günstigsten Arten zu ermitteln, mußte die Systematik der Gattung Hydra, die zum Teil noch unvollständig ist (Ewer 1948, Tardent et al. 1968), zunächst geklärt werden. Dabei erwies es sich als notwendig, besonders bei zwittrigen Arten der circumcincta-Gruppe,andere Kriterien als den Aufbau der Nesselzellen zur Unterscheidung heranzuziehen. Als mögliches Differenzialmerkmal konnte die Struktur der Embryothek benutzt werden (siehe 4.1.).

Zahlreiche frühere Untersuchungen beschäftigen sich mit dem Sexualverhalten der Hydren (Whitney 1907, Nussbaum 1907, Goetsch 1922, 1927, Gross 1925a, Kuwabara 1936, Loomis 1954, 1957, Park 1962, Burnett 1964, Tardent 1966, u.a.). Es zeigte sich dabei, daß Temperatur, pH-Wert der Lösung, Gaspartialdruck, Wechseln der Lösung, Fütterung und Dichte der Tiere einen unterschiedlichen Einfluß auf die sexuelle Differenzierung bei den verschiedenen Arten haben. Oft müssen mehrere der Faktoren in bestimmter Weise zusammenwirken, um den Übergang von der vegetativen in die sexuelle Phase herbeizuführen, ebenso oft ist es unbekannt, warum sich dieser Übergang in einer Kultur vollzieht. Weiter erschwert wird das Verständnis des Sexualverhaltens durch unbalancierte Hermaphroditen sowie labil

gonochoristische Arten. Soweit untersucht, ist das Sexualverhalten artspezifisch und kann deshalb auch mit zur Identifizierung der Arten herangezogen werden (siehe 4.1.).

Sowohl von genetischen Fragestellungen her als auch wegen der sexuellen Phänomene ist eine genaue Kenntnis der Chromosomenstruktur und ihres Verhaltens während der Mitose und Meiose notwendig. Dazu werden in vorliegender Arbeit Karyogramme erstellt und nach sexueller Induktion die Kernverhältnisse während der Meiose analysiert (siehe 4.2.).

Mitosen, die außer von Neuronen bei allen Zelltypen der Hydren bekannt sind, und Zelldifferenzierung sind bei den Polypen besonders gut in ihrem Zusammenhang mit Wachstum und Morphogenese erfaßbar, weil morphologische und physiologische Charakteristika der zellulären Ebene direkt in Beziehung zur gesamten Morphologie gesetzt werden können (Burnett 1966, Campbell 1967a,b,c, Clarkson et al. 1967, Corff 1969). Ein auslösender Faktor für die Mitosen ist die Ernährung. Wie gezeigt wird, ist es möglich, die Mitosen durch die Fütterung weitgehend zu synchronisieren. Inwieweit allerdings zwischen Mitosen und Morphogenese ein enger Zusammenhang besteht, ist offen. Während z.B. Burnett (1968) und Campbell (1967c) einen solchen fordern, verneinen andere (z.B. Clarkson 1969a,b) diese Frage. (Mitosehemmer können zur Klärung dieser Frage wenig beitragen, da ihre Auswirkungen möglicherweise über die Zellteilung und Neurosekretion - siehe 1. - zustande kommen. Damit würden Regeneration und Formerhaltung sekundär beeinflußt (Corff et al. 1969).)

Entscheidend für die Beantwortung der gestellten Fragen ist die experimentelle Handhabung der Oo- und Spermiogenese bei den Hydren

sowie Kenntnisse über diese Entwicklung. Nachdem die außen am Tier sichtbaren Hoden und Ovarien zunächst für Abnormitäten gehalten wurden (Baker 1743, Trembley 1744 u.a.), erkannte Ehrenberg (1836) als erster die Natur dieser Organe. In beiden Fällen sind es I-Zellen, die sich zu ihnen ausdifferenzieren. Elektronenmikroskopisch wird in der vorliegenden Arbeit die Oogenese verfolgt und die Bildung der "Pseudozellen" untersucht (siehe 4.3.).

Als besonders geeignete Art erwies sich dabei Hydra fusca, die kontrolliert und reproduzierbar sexuell induziert werden kann. Als weiterer Vorteil erweist sich ihr Gonochorismus und die relativ kurze Zeit von der Befruchtung bis zum Schlüpfen der jungen Tiere.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Tiermaterial und Zuchtmethoden

3.1.1. Herkunft der Hydren

Alle gezüchteten Tiere stammen von Elterntieren, die in Teichen, Bächen oder Flüssen der Umgebung Göttingens gesammelt wurden. Dazu wurden Wasserpflanzen (soweit vorhanden; an ihrer Stelle auch Laub etc.) aus den jeweiligen Gewässern entnommen und im Labor in Wannen in Hydrakulturlösung (s. unten) stehen gelassen. Die meisten Tiere können nach etwa zwei Tagen von der Wasseroberfläche mit einer Pipette abgesammelt werden. Die Tiere werden einzeln als Klone vermehrt.

Folgende Arten wurden gefunden: fusca L. (= oligactis Sch); attenuata Pall.; vulgaris Pall.; viridis L. (= Chlorohydra viridissima Pall.) sowie kleine, helle zwittrige Tiere (als circumcincta Gruppe angesprochen; s. Systematik Teil). Bis auf vulgaris, die

überhaupt nur einmal angetroffen wurde, sind alle Tiere das ganze Jahr über zu finden (auch in vollständig zugefrorenen Teichen).

Zu keiner Jahreszeit wurden, außer im Spätherbst bei fusca und autumnalis nov. sp. (siehe Systematik Teil), sexuelle Tiere in der Natur gefunden.

3.1.2. Futter

Als Futter werden Artemien verwendet (Loomis 1953) (Tetra-Werke, Melle). Anfangs wurde die Zucht der Artemien in einer Lösung von 3,4% eines synthetischen Seesalzes (Aquarium Systems Inc.) durchgeführt. Bei dieser Methode enthielt die Salzlösung nach dem Schlüpfen der Artemien außer Pilzen und Protozoen rund 10^6 anzüchtbare Keime pro ml. Um jedoch Weibchen von fusca, die sich als außerordentlich empfindlich gegenüber Bakterien und Pilzen erwiesen, in ständiger Massenzucht zu erhalten und um semi-sterile Hydren züchten zu können, mußten zunächst die Artemien steril kultiviert werden. Folgende Methode erwies sich als erfolgreich: die Artemieneier werden erst 5 Min. mit 60%-igem Äthanol gewaschen, dann mit destilliertem Wasser gespült und in sterilisierte 250 ml Waschflaschen überführt. Diese wird mit einer 6%-igen Lösung des oben erwähnten synthetischen See-Salzes aufgefüllt. Die Lösung enthält ferner pro 10 Liter: 2,5 g Streptomycinsulfat, 2,5 g Neomycinsulfat, 5 g Penicillin G (Kaliumsalz), 0,5 g Aureomycin und 1 g Mycostatin. Die Waschflasche steht in einem Wasserbad bei 33°C und wird kontinuierlich mit ozonisierter Luft (Ozonisator Baugröße II, 25 mg O_3/Std., Fa. Sander, Elze) durchsprudelt. Nach 24 Std. sind mehr als 50% der Artemien geschlüpft. Sowohl die Salzlösung als auch die Artemien (Quetschausstriche) enthalten keine

auf Blutagar anzüchtbaren Keime. Die 7%-ige Salzlösung bedingt außer schlechten Wachstumsbedingungen für Bakterien etc., daß sich die Eier am Boden der Waschflasche absetzen, so daß die Artemien darüber mit einer Pasteuer-Pipette abgesaugt werden können. Sie werden dann mit sterilem destilliertem Wasser gespült, abgesiebt, in sterile Hydra-Kulturlösung (s.unten) überführt und verfüttert. In einer 250 ml Waschflasche schlüpfen bei 3 g Artemieneier ausreichend Artemien für etwa 10 000 Hydren.

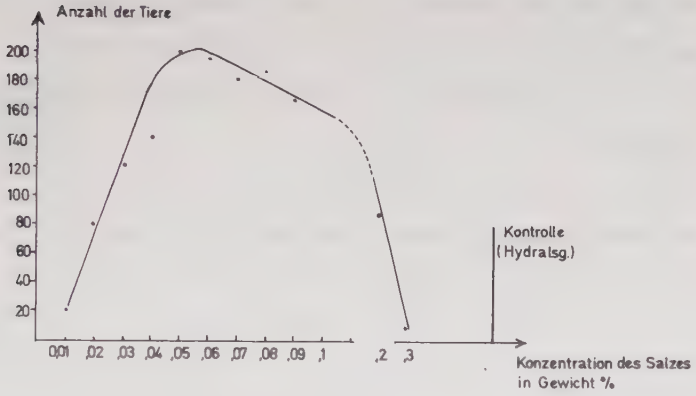
3.1.3. Kulturlösung

Als Kulturlösung wird eine definierte Salzlösung, modifiziert nach Loomis (1956), verwendet. Sie wird mit destilliertem Wasser angesetzt und enthält pro Liter: 130 mg $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 84 mg $NaCO_3$, 46 mg $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 1,5 mg KCl und 5 mg EDTA.

Die fertige Lösung wird autoklaviert und hat danach einen pH-Wert von 8,0. In dieser Lösung wachsen außer attenuata und vulgaris alle erwähnten Arten,auch littoralis, die uns von Prof. Tardent, Zürich, freundlicherweise überlassen wurde. Zur Zucht von attenuata und vulgaris werden zu je 25 Liter dieser Lösung 0,3 ml einer käuflich erhältlichen Spurenelementlösung zugesetzt (Biomarin, Tetra-Werke).

Die Hydra-Kulturlösung hat eine Salinität von ca. 0,027%. Versuche mit verschiedenen Konzentrationen des synthetischen See-Salzes ergaben, daß sich nur viridis bei einer Salinität dieses Salzes von 0,05% schneller als in der Hydra-Kulturlösung verdoppelte (etwa 2/3 der Generationszeit der Kontrolltiere) (s. Abb. 1).

Abb. 1
Hydra viridis bei verschiedenen Konzentrationen des synthetischen See-Salzes ausgehend von je 20 Tieren, Versuchsende nach 10 Tagen; Anzahl der Kontrolltiere in Hydralösung zu dieser Zeit 75.



3.1.4. Zucht

Alle im folgenden beschriebenen Zuchtgefäße, Gummischaber, Schläuche, etc. werden entweder autoklaviert, in 70%-igem Äthanol oder unter UV-Licht sterilisiert.

Die Tiere werden, nachdem sie kloniert sind, zunächst in kleinen, dann in 250 ml fassenden Plastikbechern mit Deckeln (Kaberit-Spritzgußwerke, Bensberg/Köln) hochgezogen. Bei einer Anzahl von etwa 50 Stck. pro Becher werden diese durch etwa 6 Liter fassende Wannen ersetzt. Diese Wannen sind ca. zur Hälfte mit Lösung gefüllt. Erreichen die Tiere hierin eine Anzahl von etwa 800 Stück, so werden sie in 50 cm breite, 60 cm lange und 12 cm hohe extra zu diesem Zweck angefertigte Spezialwannen mit Abfluß umgesetzt. In jeder dieser Wannen züchten wir von fusca bis zu 5000 Tiere, Knospen nicht mitgezählt.

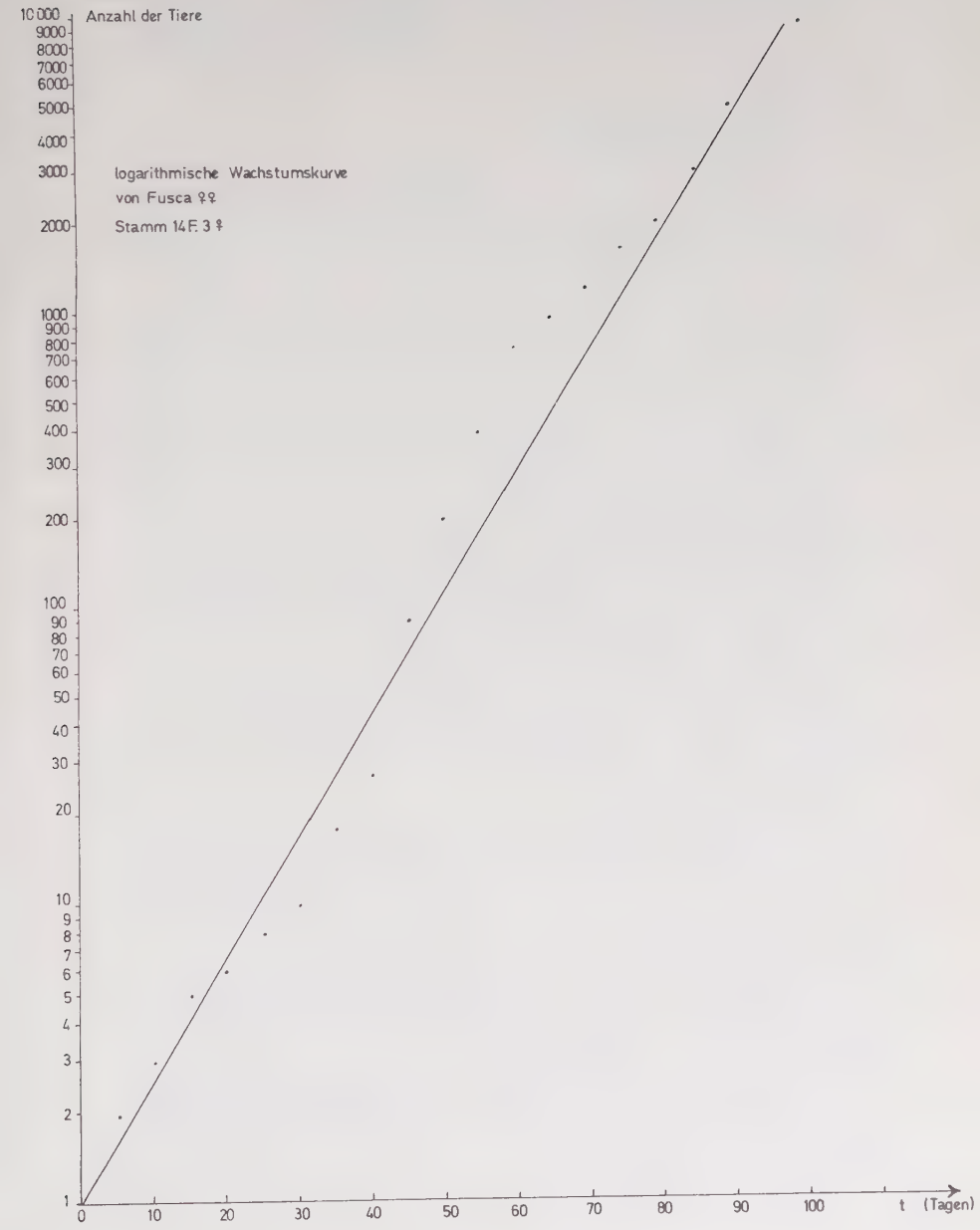
Die aufzuziehenden Tiere werden bei 18 ± 2°C gehalten und täglich gefüttert. 2 Stunden danach werden sie mit einem Gummischaber von der Unterlage gelöst. Die Tiere werden in der Kulturlösung gespült und möglichst ohne Artemien mit frischer Lösung in ein neues Zuchtgefäß gegeben. Mit dieser Methode wird bei durchgehend täglicher Fütterung (außer samstags und sonntags) bei fusca alle 7 Tage eine Verdopplung erreicht (s. Abb 2).

Schon früher wurden Antibiotika,einerseits um die Kontamination von Mikroorganismen in Hydrakulturen niedrig zu halten (Muscatine 1965),andererseits um sterile Tiere für Zellkulturen zu bekommen, (Li 1963) eingesetzt. Um auf diese Weise sterile Tiere zu züchten, wurden verschiedene Antibiotika getestet. (Tabelle I; Hydra fusca als Testtier).

Antibiotika	Konzentration/l Kulturlösung, die die Hydren langfristig vertragen	Konzentration/l Kulturlösung, bei der die Hydren eingehen (z.T. erst nach längerer Zeit)
Penicillin G Kaliumsalz (1590 E/mg)	2,5 g	3 g
Mycostatin (Serva)	1 g	2 g
Chloramphenicol (Serva)	0,7 g	0,8 g
Streptomycin-sulfat (725 E/mg)	2 g	2,5 g
Neomycinsulfat (Serva)	1 g	2,5 g
Tetracyclin-Base (Serva)	0,2 g	0,3 g
Aureomycin (Serva)	0,03 g	0,035 g
Fumidil	0,4 g	0,5 g
Fungizone (Amphotericin B 250 E/ml)	1,5 ml	2 ml

Tabelle I: Konzentration verschiedener Antibiotika, die von Hydra fusca noch vertragen werden bzw. bei denen sie eingehen

Abb. 2


Anzahl der Tiere
10 000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
logarithmische Wachstumskurve
von Fusca ♀♀
Stamm 14 F. 3 ♀
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
t (Tagen)

Als geeignet für die Sterilisation der Tiere erwies sich die Kombination von Penicillin, Neomycin, Streptomycin und Aureomycin. Selten auftretender Pilzbefall wird mit Mycostatin relativ leicht unterdrückt.

3.2. Chromosomenpräparation

Chromosomenpräparate werden in Anlehnung an eine von Ostertag (1966) modifizierte, ursprünglich von Moorhead et al. (1960) für Leukozyten beschriebene Methode durchgeführt.

1: Weitgehend steril gehaltene Tiere werden zur hypotonischen Ausdehnung der Zellen in einer frisch angesetzten 0,2%-igen Natriumcitratlösung in spitzen, silikonisierten Zentrifugengläschen mittels einer Pasteur-Pipette solange vorsichtig auf- und abpipettiert, bis eine homogene Zellsuspension vorliegt.

2: Nach 20 Minuten hypotonischer Behandlung wird die Zellsuspension in einer Laborzentrifuge bei 1500 Umdrehungen pro Minute (UpM) 5 Min. zentrifugiert und der Überstand abgegossen.

3: Dem Zentrifugat werden 3 ml frisch angesetzte Fixierlösung (25% Eisessig p.A., 75% Methanol abs. p.A.) zugegeben (ohne das Sediment aufzuwirbeln).

4: Nach 30 Min. werden die Zellen durch Pipettieren in der Fixierlösung suspendiert und danach 5 Min. bei 1500 UpM zentrifugiert und der Überstand abgegossen.

5: Dem Zentrifugat werden 1 ml Fixierlösung zugegeben und die Zellen werden darin suspendiert.

6: Nach 5 Min. wird wiederum 5 Min. bei 1500 UpM zentrifugiert und der Überstand abgegossen.

7: Wie Vorgang 5

8: Nach 5 Min. wird abermals 5 Min. bei 1500 UpM zentrifugiert und der Überstand abgegossen.

9: Dem Zentrifugat werden einige Tropfen Fixierlösung zugefügt und durch Auf- und Abpipettieren mit einer ausgezogenen Pasteur-Pipette werden die Zellen suspendiert.

10: 2 bis 3 Tropfen der Zellsuspension werden auf einen gut entfetteten Objektträger gebracht.

11: Der Objektträger mit Zellsuspension wird über eine schwache Flamme gehalten, wobei die Fixierlösung abbrennt.

12: Das Präparat wird durch Hin- und Herschwenken in der Luft abgekühlt und der Rest der Fixierlösung zum Verdunsten gebracht.

13: Zur Färbung wird das Präparat 4 bis 7 Min. in frischer 5%-iger Giemsalösung (Azur-Eosin-Methylenblau-Färbung) belassen. Die Färbelösung besteht aus einer Giemsalösung in Sörensen Phosphatpuffer: 15,2% (=19 Volumenteile) von $\frac{1}{15}$ m KH_2PO_4 (=9,08 g/l) und 84,8% (=106 Volumenteile) von $\frac{1}{15}$ m Na_2HPO_4 (=11,9 g/l). Nachdem 5 ml Giemsalösung in 100 ml Sörensenpuffer gelöst sind, stellt sich ein pH von 7,4 ein.

Die auf dem Objektträger befindliche Färbelösung wird mit kaltem Leitungswasser abgewaschen.

14: Nach Trocknen des Präparates wird es nach den üblichen Verfahren zum Mikroskopieren eingesetzt.

3.3. Fixierung und Vorbereitung von Hydren bzw. Hydra-Eiern für die Elektronenmikroskopie

3.3.1. Glutaraldehyd-Fixation

Die mit einer Pasteur-Pipette aufgenommenen Tiere bzw. Eier werden zur Fixierung mit möglichst wenig Kulturlösung schnell in Glutaraldehydlösung überführt. Die Fixierlösung besteht aus einer 4%-igen Glutaraldehydlösung in Phosphatpuffer (nach Sörensen): 3,8% (=4 Vol.-Teile) von 0,136 m KH_2PO_4 (=18,5 g/l) und 96,2% (=100 Vol.-Teile) von 0,136 m Na_2HPO_4 (=24,2 g/l).Nachdem 1 ml 25%-ige wässrige Glutaraldehydlösung (TAAB, Lab. Reading, England) in 5 ml Phosphatpuffer gelöst sind, stellt sich ein pH-Wert von 7,6 ein. Die Proben werden meist über Nacht, mindestens aber 5 Std. fixiert.

3.3.2. Nachfixation und Kontrastierung mit Osmium

Nach der Glutaraldehyd-Fixation werden die Proben gründlich (mindestens 3 x) im Abstand von 2 Std. in Phosphatpuffer, der auf pH 7,4 eingestellt und mit Saccharose isotonisch (etwa 0,35 m) gemacht wurde, gewaschen. Die OsO_4-Fixation geschieht in 1%-iger Osmiumlösung nach Palade (1952). Die ursprüngliche Hypotonie des Gemisches von Palade wird, wie bei Reimer (1967) angegeben, mit NaCl aufgehoben. Die Fixationszeit beträgt 2 Std.

3.3.3. Einbettung, Schneiden, Kontrastierung mit Uranylacetat und Mikroskopieren

Nach der Osmium-Fixation werden die Proben erneut gründlich gewaschen, dann in einer aufsteigenden Äthanolreihe entwässert und schließlich nach Luft (1961) in Epon (aliphatisches Epoxyharz) eingebettet (Reimer, S. 490 f). Polymerisiert wird 48 Std. bei 60°C. Die Schnitte werden mit dem Ultrotom III der Firma LKB (Stockholm) hergestellt.

Zur Nachkontrastierung am Schnitt wird eine 2%-ige wässrige Uranyl-

acetatlösung eingesetzt. Bei 50°C wird 1 Std. kontrastiert und dann 3 x mit aqua bidest. gewaschen.

Die Auswertung der Präparate und die elektronenoptischen Aufnahmen erfolgten in einem Mikroskop Jeol 100 B (Tokyo) bei 80 kV.

4. ERGEBNISSE

4.1. Sexualverhalten und Systematik der einheimischen Arten der Gattung Hydra. Beschreibung von zwei neuen Arten

4.1.1. Hydra viridis L. (= Chlorohydra viridissima Pall.)

Von den gesammelten Arten (viridis, fusca, attenuata, vulgaris und die Zwitter der circumcincta-Gruppe) läßt sich viridis schon aufgrund der Farbe ihrer Symbionten leicht bestimmen. Da viridis durch verschiedene Methoden (unter anderem auch Lichtentzug, wie er in der Natur auch vorkommen kann) im Labor symbiontenfrei aufgezogen werden kann (Whitney 1908), ist mit der Möglichkeit zu rechnen, auch in der Natur helle Tiere dieser Art zu finden. Da es zwittrige Formen wie in der circumcincta-Gruppe sind (s. unten) und da die Morphologie der Tiere als taxonomisches Merkmal nicht gut geeignet ist, muß man zur Differenzierung die Nesselkapseln heranziehen. Dazu geeignet sind im allgemeinen die Penetranten (Stenothelen) oder die streptolinen Glutinanten (holotriche Streptolinen).

Viridis unterscheidet sich von der circumcincta-Gruppe durch eine fast bananenförmige streptoline Glutinante. Der Breiten-Längen-Index (d.h. der Quotient gebildet aus der größten Breite und der Länge) der Penetranten ist 0,85 (0,75-0,86) (Tardent 1968).

Die Hülle der Embryos (die Embryothek) soll polygonale Felderung aufweisen (Kinne 1964). Diese Struktur findet sich bei der neu

beschriebenen Hydra polygonata nov. sp. der circumcincta-Gruppe (s. unten) wieder.

Von viridis wurden bei uns im Labor keine sexuellen Tiere erhalten.

4.1.2. Hydra fusca L. (=Hydra oligactis P.Sch. = Pelmatohydra oligactis Pall.)

Diese gonochoristische Art läßt sich aufgrund des abgesetzten Stieles, der extrem langen Tentakel (oft über 5 cm), der schraubigen Knospenanordnung, der succedanen Tentakelbildung der Knospen, der sexuellen Induktion durch Temperaturen um und unter 10°C ebenso wie durch die Nesselkapsel-Morphologie gut differenzieren. Der Breiten-Längen-Index beträgt bei der Penetranten 0,73 (0,71-0,78) bei der stereolinen Glutinanten (nur diese ist vorhanden) 0,40 (0,36-0,46) (s. auch Tardent 1968).

Die runde Embryothek (Durchmesser 350 µm bis 500 µm) dieser Art ist fein-höckrig (Abb. 3).

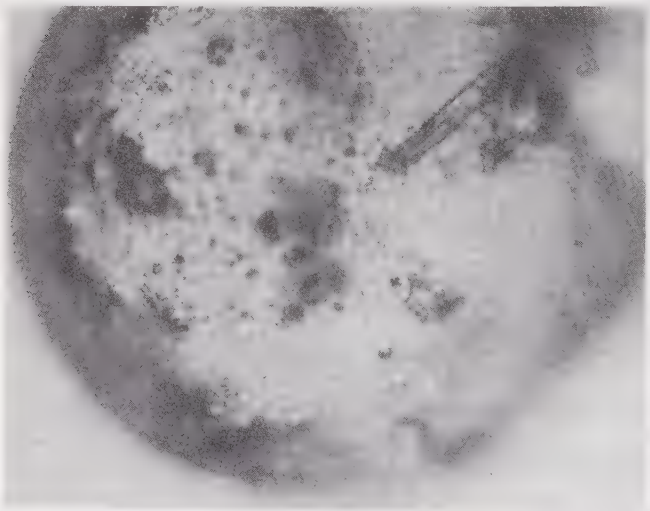


Abb. 3: Embryothek von Hydra fusca; geschlüpft. Vergr.: 260:1

Die Ausbildung der Sexualorgane erfolgt bei 10°C zwischen 20 und 30 Tagen (bei dreimaliger Fütterung in der Woche). Die Entwicklungsdauer der Eier bis zum Schlüpfen der Jungtiere beträgt bei 18°C 15 bis 40 Tage. Die Tentakelbildung der Jungtiere erfolgt wie bei den Knospen succedan. Zur Zeit des Schlüpfens besitzen sie zwei Tentakel. Die erste Sexualperiode kann bei täglicher Fütterung nach etwa 35 Tagen induziert werden.

4.1.3. Hydra attenuata Pall. (Hydra vulgaris attenuata Pall.)

Diese labil gonochoristische Art hat außer ihrer größeren Länge (in ausgestrecktem Zustand bis zu 2 cm und mehr) äußerlich kein gutes Differenzierungsmerkmal gegenüber den Arten der circumcincta-Gruppe. Bei allen handelt es sich um Tiere ohne abgesetzten Stiel; die Tentakelzahl ist in der Mehrzahl 6 und wird bei den Knospen simultan ausgebildet. Von Hydra vulgaris läßt sich attenuata äußerlich morphologisch überhaupt nicht unterscheiden. Zur genauen Bestimmung geeignet ist wiederum der Breiten-Längen-Index der Nesselkapseln. Er ist bei den Penetranten 0,81 (0,76-0,86), bei der streptolinen Glutinanten 0,47 (0,40-0,50) (s. auch Tardent 1968). Ebenso charakteristisch ist für diese Art die Struktur der runden Embryothek (Durchmesser 400 µm bis 500 µm) mit gegabelten Stacheln, die eine Länge von 35 µm bis 48 µm haben (Abb. 4).

Sexuell wurde attenuata in unseren Kulturen immer dann, wenn sie etwa zwei Wochen nicht gefüttert und die Lösung nicht gewechselt wurde. Die Entwicklungsdauer der Eier beträgt bei 18°C zwischen 12 und 30 Tagen. Die Jungtiere haben beim Schlüpfen ihre definitive Tentakelzahl, im Durchschnitt 6 (Extreme: 4 bis 8).

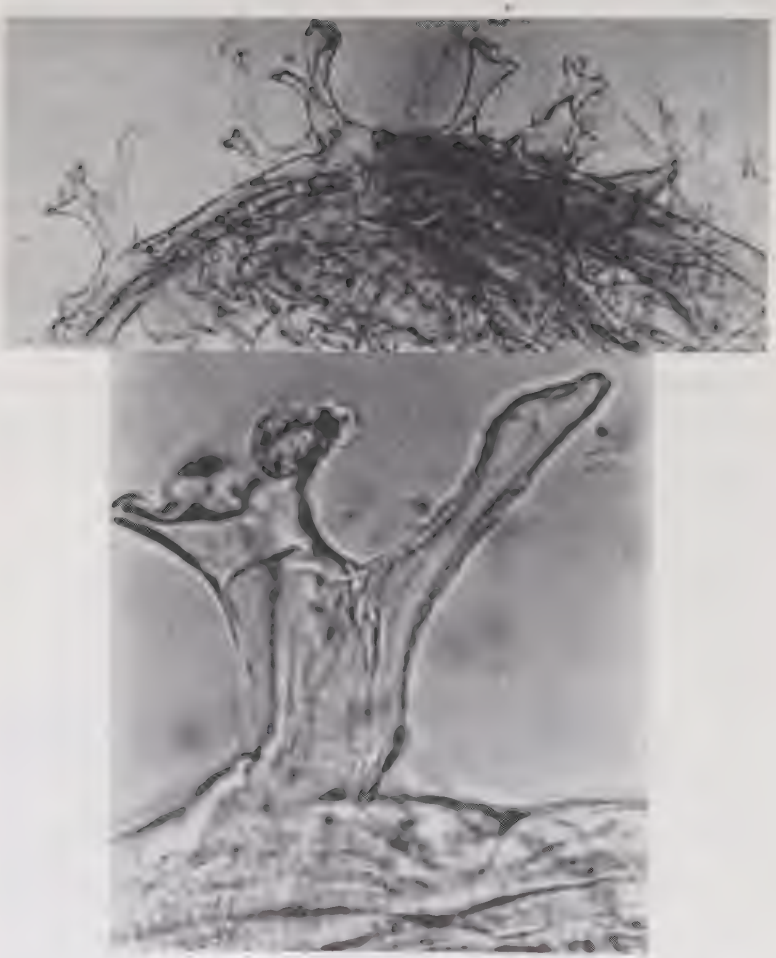


Abb. 4 a und b: Embryothek von Hydra attenuata; geschlüpft.

a: Vergr.: 410 : 1.

b: Einzelner Stachel der Embryothek . Vergr.: 1640 : 1.

4.1.4. Hydra vulgaris Pall. (Hydra vulgaris vulgaris Pall.)

Diese hermaphroditische Art unterscheidet sich äußerlich nicht von attenuata. Ebenso sind die Cniden als Differenzierungsmerkmal nicht geeignet. Lediglich die Windungen an der Basis des Fadens der streptolinen Glutinante zeigen einen gewissen Unterschied: bei vulgaris kommen zwei bis drei, bei attenuata drei bis vier vor.

Sexualität konnte in derselben Weise wie bei attenuata erzeugt werden.

Die Embryothek dieser Art ist der von attenuata sehr ähnlich (Abb. 5).

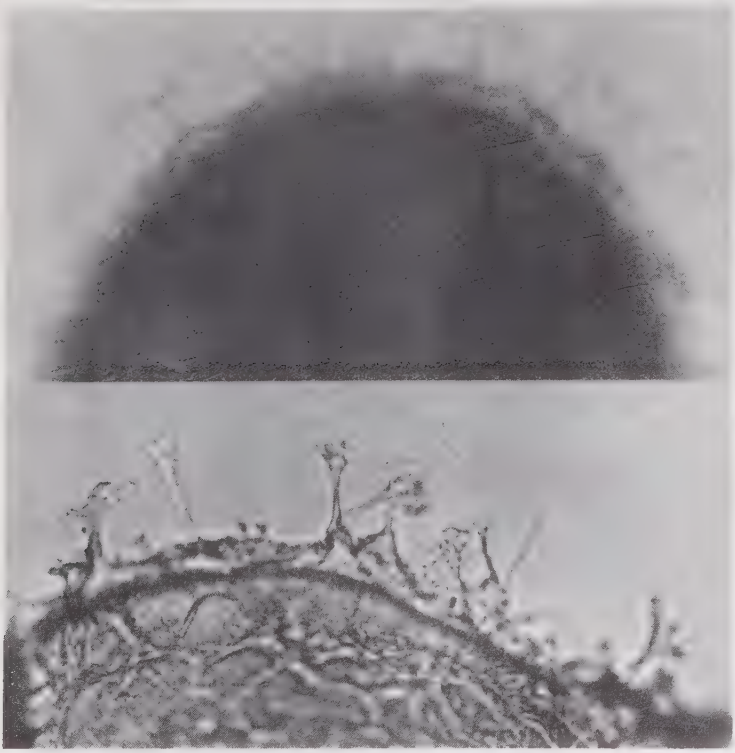


Abb. 5 a und b: Embryothek von Hydra vulgaris
a: ungeschlüpft, Vergr.: 260:1
b: geschlüpft, Vergr.: 410:1

Die Länge der etwas weniger als bei attenuata gegabelten Stacheln beträgt 40 µm bis 50 µm.

Ein wesentlicher Unterschied besteht hinsichtlich der Entwicklungsdauer, die bei vulgaris bei 18°C 190 bis 230 Tage lang ist. Die Jungtiere haben (wie attenuata) beim Schlüpfen ihre definitive Tentakelzahl, im Durchschnitt auch 6 (4 bis 8). Wegen der insgesamt nicht sehr scharfen Abgrenzung von vulgaris gegenüber attenuata erscheint es angebracht, beide Arten als Unterarten von vulgaris aufzufassen, wie es einige Autoren bereits getan haben (z.B. Niiyama 1944).

4.1.5. Die circumcincta-Gruppe

4.1.5.1. Hydra circumcincta Sch. (= Hydra stellata Sch. = Hydra ovata Boecker)

Unter dem gesammelten Material befanden sich mit Regelmäßigkeit und aus den verschiedensten Gewässern Tiere, die aufgrund ihrer Morphologie als Hydra circumcincta angesprochen wurden. Auf alle diese Tiere paßt die ausführliche Beschreibung von Tardent, der zu dem Schluß kommt, daß die Arten circumcincta, stellata und ovata identisch sind und unter dem Namen circumcincta zusammengefaßt werden sollen (Tardent 1968, Boecker 1920, Schulze 1914). Nachdem diese Tiere kloniert worden waren, zeigte sich bei einem Teil der Klone spontane Sexualität (bis zu 100% der Tiere einer Kultur) bei 18°C, andere hingegen wurden sexuell, wenn sie bei 9°C gehalten wurden (Kontrollen bei 18° niemals).

Die Untersuchung der Nesselkapseln der Tiere, die spontane Sexualität bei 18°C zeigten (oft Simultanzwitter; in einer Sexualperiode aber auch protandrische und proterogynische Hermaphroditen: nicht

balancierte Hermaphroditen), bestätigte dann die Werte des Breiten-Längen-Index, die Tardent (1968) erhalten hatte: Penetranten: 0,84 (0,72-0,88); streptoline Glutinanten (holotriche Streptolinen): 0,71 (0,65-0,78); stereoline Glutinanten (atriche Stereolinen): 0,44 (0,41-0,50); Volventen (Desmonemen): 0,65 (0,60-0,70).

Die Eihülle einer Gruppe dieser Tiere, die nach den Nesselkapseln als circumcincta anzusprechen waren, zeigte dann auch die Stacheln wie sie bei circumcincta an der Oberseite des abgeplatteten Eies vorkommen (Schulze 1917). Abb. 6 zeigt das Ei mit Embryothek.

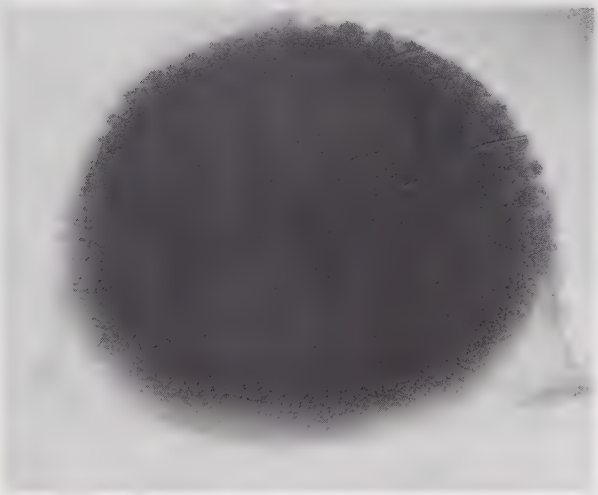


Abb. 6 a: Ei von Hydra circumcincta (von der Seite) Vergr.: 260:1

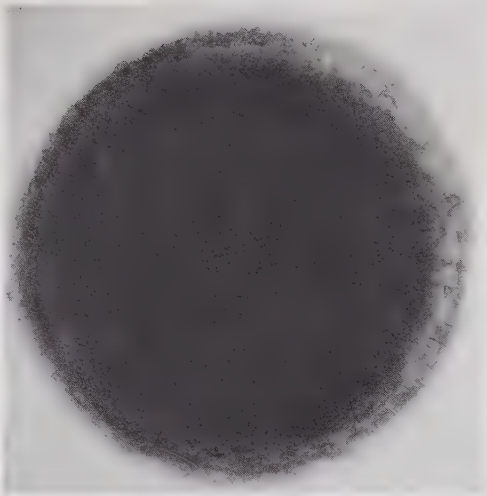


Abb. 6 b: Ei von Hydra circumcincta (von oben) Vergr.: 260:1

Die Form des Eies ist oft stärker abgeplattet, als die Abbildung zeigt. Der Durchmesser schwankt von 300 µm bis 450 µm.

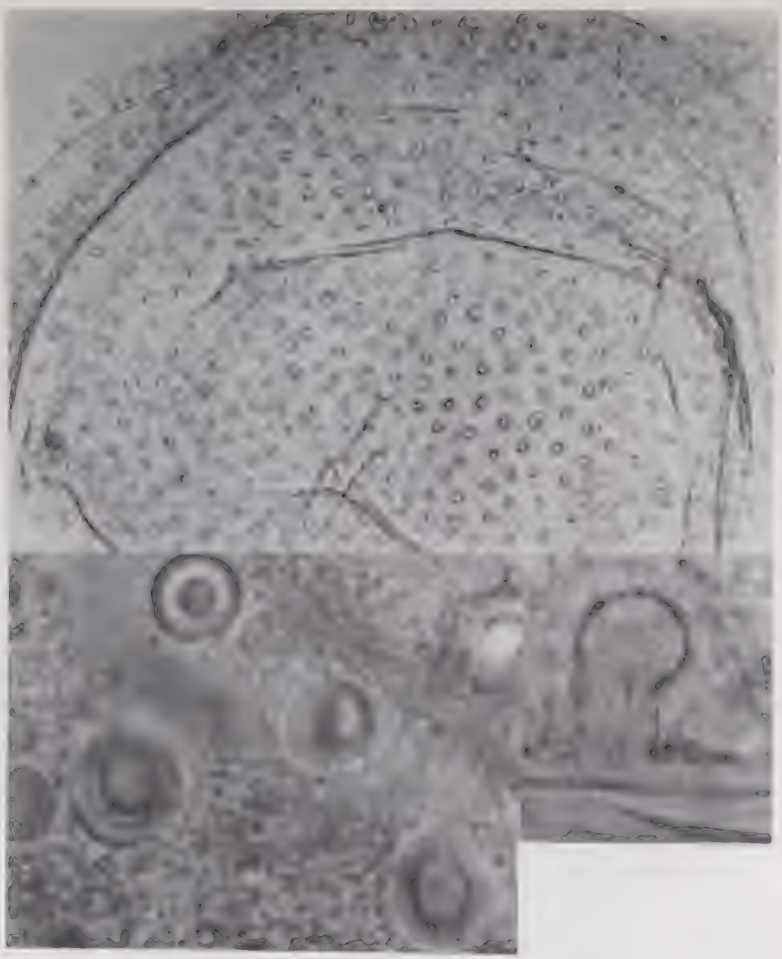


Abb. 7 a, b u. c: Struktur der Embryothek von Hydra circumcincta; geschlüpft .

a: Aufsicht, Vergr.: 410:1

b: wie a, Vergr.: 2580:1

c: einzelner Stachel, Vergr.: 2580:1

Abbildung 7 zeigt die Struktur der Embryothek. Diese wurde über drei Generationen verfolgt und unterliegt keiner Änderung. Die mehr oder weniger geknöpften Stacheln sind innen hohl und im Durchschnitt 10 µm lang.

Die Entwicklungsdauer von circumcincta ist bei 18°C 120 bis 200 Tage lang. Die Jungtiere haben beim Schlüpfen gleich ihre definitive Tentakelzahl : im Durchschnitt 6 (Extremwerte 4 bis 8). Die Tiere erreichen etwa nach einem Monat bei guter Fütterung ihre erste Sexualperiode.

4.1.5.2. Hydra polygonata nov. spec.

Nachdem weder die äußerliche Morphologie noch die Nesselkapseln bei den zwittrigen Tieren, die bei 18°C spontan sexuell wurden, einen Unterschied zeigten, ergab jedoch die Untersuchung der Embryothek , daß es sich außer um circumcincta um eine weitere Art handelt. Die über vier untersuchte Generationen stabile Struktur der Embryothek der neuen Art zeigt eine polygonale Felderung wie sie bei viridis vorkommt (s. oben). Die Möglichkeit, daß es sich um symbiontenfreie viridis handelt, ist aufgrund der Nesselkapseln, die dasselbe Aussehen wie die von circumcincta haben, auszuschließen.

Abbildung 8 zeigt das Ei, dessen Durchmesser 300 µm bis 400 µm beträgt. Das Ei ist wie bei circumcincta abgeplattet, die Unterseite hat die polygonale Felderung nicht.

Bei der Aufsicht erscheint die polygonale Felderung an der Seite des Eies dadurch, daß die Ränder, die die Felder begrenzen, erhaben sind, eher warzenartig (Abb. 8b). Im geschlüpften Zustand kann die Felderung dann besser gesehen werden wenn die Embryothek platt gedrückt wird (Abb. 9 b,c).

Abb. 8 a u. b: Ei von Hydra polygonata. Vergr.: 260:1
a: von der Seite
b: von oben

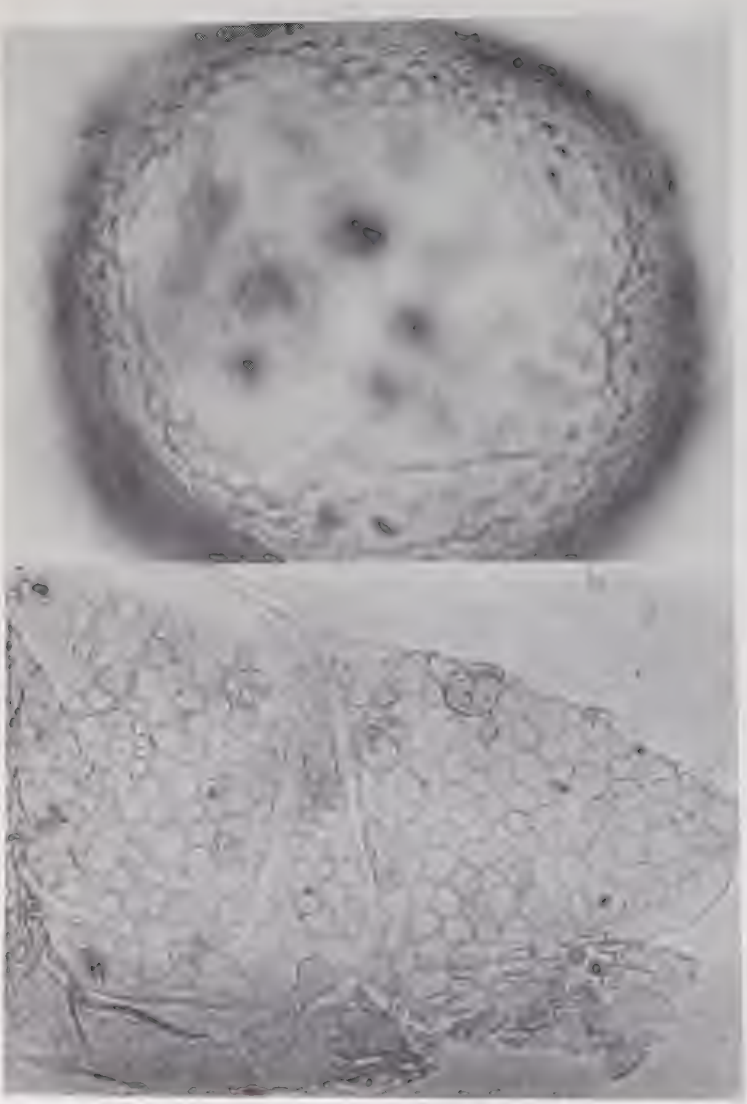


Abb. 9 a u. b: Embryothek von Hydra polygonata; geschlüpft.
a: von oben, Vergr.: 260:1
b: ausgebreitet, Vergr.: 260:1

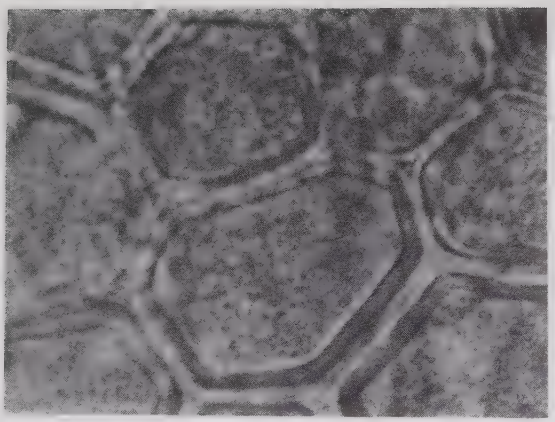


Abb. 9 c: Embryothek von Hydra polygonata; geschlüpft und ausgebreitet, Vergr.: 2580:1

4.1.5.3. Hydra autumnalis nov. spec.

Wie oben erwähnt, befanden sich unter den zwittrigen Tieren, die zunächst aufgrund ihres Aussehens alle für circumcincta gehalten wurden, einige Klone, die bei 9°C sexuell wurden (meist Simultanzwitter, seltener in einer Sexualperiode protandrisch bzw. proterogynisch), bei 18°C nie.

Die Tiere mit diesem Sexualverhalten sind äußerlich von den beiden oben beschriebenen (circumcincta und polygonata) nicht zu unterscheiden. Die Untersuchung der Nesselkapseln ergab dann aber, daß sich besonders die streptolinen Glutinanten von denen der beiden vorhergehenden Arten unterscheiden (die Aufwindung des Fadens ist dieselbe). Ihr Breiten-Längen-Index ist bei autumnalis 0,64 (0,60-0,69) (bei circumcincta und polygonata 0,71). Die absolute Länge

beträgt 10,7 µm (10,0-11,7); die absolute Breite ist 6,9 µm (6,3-7,6). Der Breiten-Längen-Index der Penetranten ist 0,85 (0,76-0,88); ihre Länge ist 16,1 µm (10,7-21,8); ihre Breite 13,8 µm (8,3-18,9). Die Volventen haben einen Breiten-Längen-Index 0,66 (0,61-0,70); ihre Länge ist 6,9 µm (6,0-7,9), ihre Breite 4,6 µm (3,9-5,9). Die stereolinen Glutinanten (sie sind seltener als die anderen Nesselkapseln) haben einen Breiten-Längen-Index von 0,47 (0,42-0,56); ihre Länge ist 7,6 µm (6,8-9,0), ihre Breite 3,5 µm (3,0-4,0). Abbildung 10 zeigt die Nesselkapseln von autumnalis (Tentakelquetschpräparate).

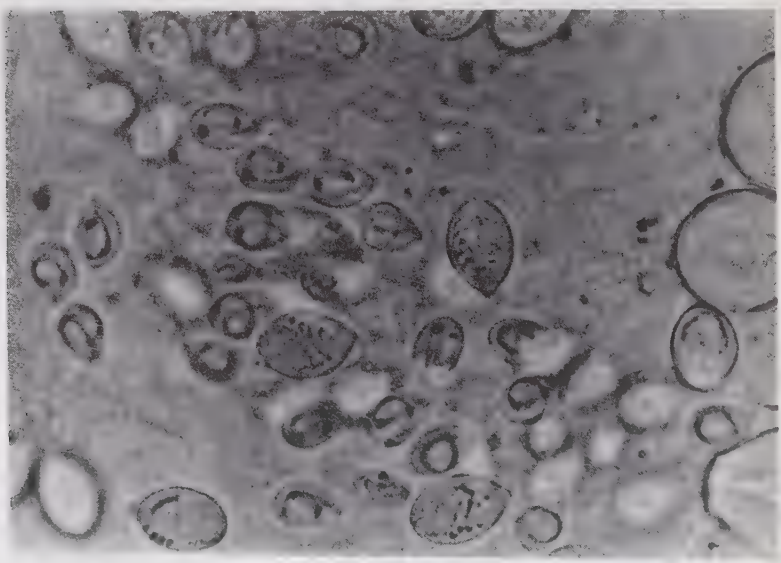


Abb. 10 a: Nematocyten von Hydra autumnalis, Vergr.: 1640:1

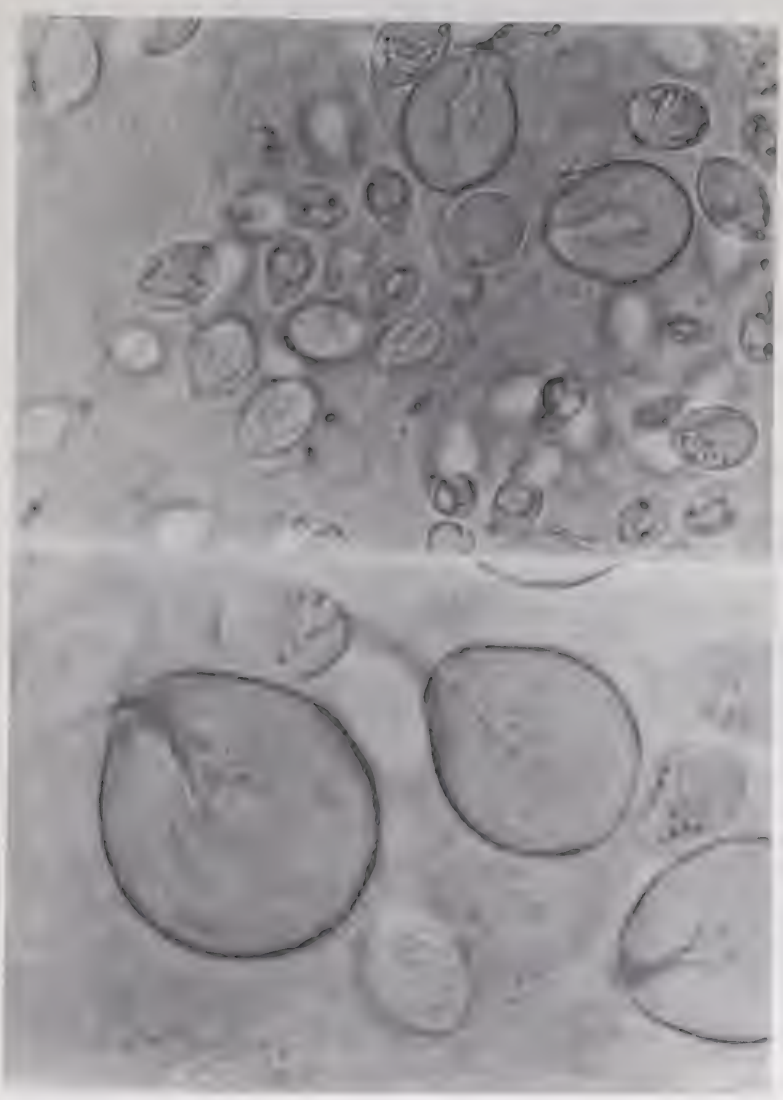


Abb. 10 b u. c: Nematocyten von Hydra autumnalis

b: Vergr.: 1640:1

c: Vergr.: 2580:1

Die Embryothek dieser Art ist im Gegensatz zu allen anderen auf der Ober- und Unterseite vollständig glatt (s. Abb.11).

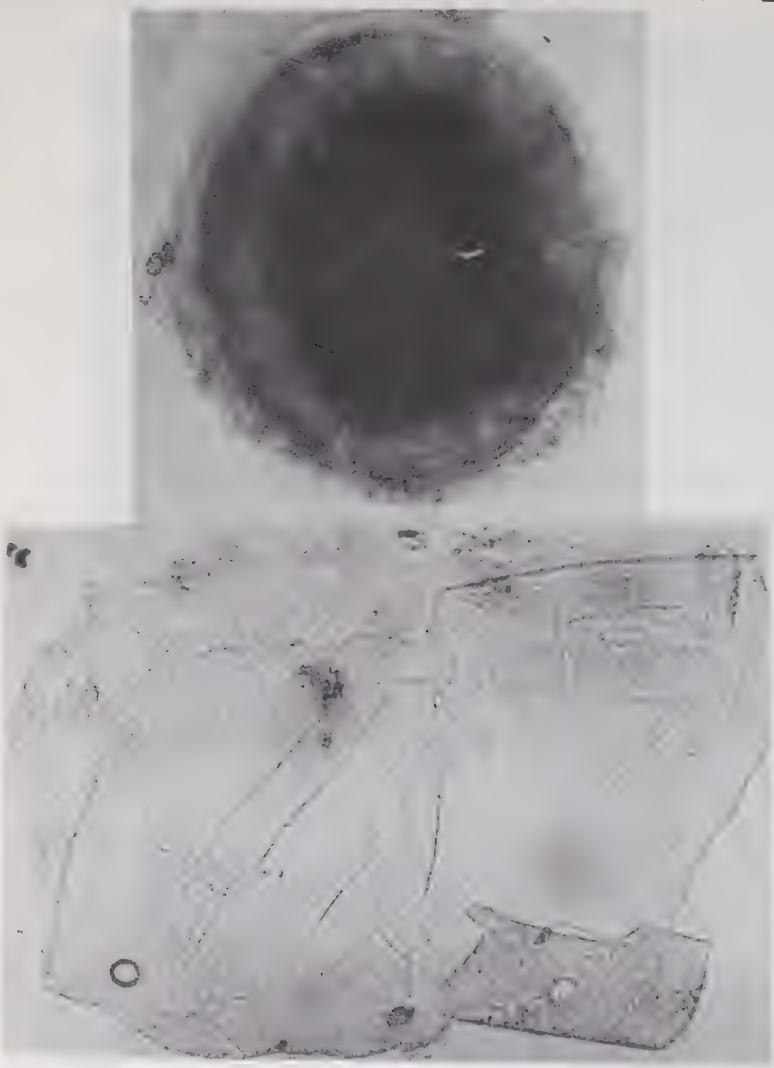


Abb. 11: a: Ei mit Embryothek von Hydra autumnalis; ungeschlüpft, Vergr.:260:1
b: Embryothek nach dem Schlüpfen ausgebreitet, Vergr.:260:1

Der Durchmesser des Eies schwankt zwischen 280 µm und 400 µm. Die abgeplattete Form ist dieselbe wie die bei circumcincta und polygonata. Die Entwicklungsdauer beträgt bei 18°C 140 bis 220 Tage. Die Jungtiere haben gleich ihre definitive Tentakelzahl von 6 (4-6).

Wie von fusca, auch eine Art, die durch niedrige Temperaturen sexuell induziert wird, findet man von autumnalis im Spätherbst in der Natur sexuelle Tiere.

4.1.6. Tabellarische Zusammenfassung der taxonomisch relevanten Merkmale der untersuchten und neu beschriebenen Arten

Art	Tentakelbildung an Knospen und Jungtiere	Körperstiel vorhanden	Sexualität	Breiten-Längen Index der streptolinen Glutinante (außer bei fusca)
fusca	succedan	ja	Männchen u. Weibchen	0,40 (stereoline Glutinante)
viridis	simultan	nein	Zwitter, nicht balanciert, oft nur Männchen	
vulgaris attenuata	simultan	nein	Männchen u. Weibchen, selten Zwitter	0,47
vulgaris vulgaris	simultan	nein	Zwitter	0,47
circumcincta	simultan	nein	nicht balancierter Zwitter	0,71
polygonata nov. spec.	simultan	nein	nicht balancierter Zwitter	0,71
autumnalis nov. spec.	simultan	nein	nicht balancierter Zwitter	0,64

Art	Breiten-Längen-Index der Penetrante	sex. Induktion allein durch Temperaturen unter 10°C	Struktur der Embryothek	Entwicklungsdauer bei 18°C (in Tagen)
fusca	0,73	ja	fein-höckrig	15-40
viridis	0,85	nein	polygonale Felderung	42-56 (?) (Steche, 1911)
vulgaris attenuata	0,81	nein	gegabelte Stacheln von ca. 40 µm Länge	12-30
vulgaris vulgaris	0,81	nein	gegabelte Stacheln von ca. 45 µm Länge	190-230
circumcincta	0,84	nein	geknöpfte Stacheln von ca. 10 µm Länge	120-200
polygonata nov. spec.	0,84	nein	polygonale Felderung	110-190
autumnalis nov. spec.	0,85	ja	glatt	140-220

4.2. Mitose und Meiose bei Hydren: Chromosomenzahlen und Kernverhältnisse bei Spermio- und Oogenese

Nur eine sehr kleine Zahl von zumeist älteren Arbeiten beschäftigt sich mit Chromosomen der Coelenteraten. Besonders fragmentarisch und wegen unzureichender Techniken (alle zitierten Autoren, die sich mit Hydra beschäftigen, untersuchten Dünnschnitte) unzuverlässig sind die Ergebnisse bei der Gattung Hydra.

Brauer (1891) berichtet von 12-14 Chromosomen im haploiden Zustand. Downing (1905 1908) nennt 12 V-förmige Chromosomen in den interstitiellen Zellen bei Hydra dioecia, H. fusca und H. viridis.

Mc Connell (1932, 1933 a u. b, 1936), der in seinen Arbeiten zum ersten Mal zeigte, daß sich Epithelmuskelzellen und Drüsenzellen des Endoderms relativ oft mitotisch teilen, gibt für Hydra fusca ebenfalls 12 V-förmige Chromosomen an. Da er aber auch zwittrige Tiere in seinem Untersuchungsmaterial vorliegen hatte, ist schon die Artzuordnung offensichtlich falsch, denn fusca ist streng getrenntgeschlechtlich.

Wie unsere Untersuchungen ergeben haben, sind sowohl Downings, als auch Mc Connells Angaben offensichtlich wegen mangelhafter Techniken falsch. Die einzige, brauchbare Ergebnisse liefernde Arbeit stammt von Niiyama (1944). Dieser gibt folgende Chromosomenzahlen und -strukturen an:

Art	Chromosomenzahlen	Chromosomenstruktur		
		submesomitic = V-förmig (=submediozentrisch)	subtelomitic = J-förmig (=subterminal)	orthotelomitic (=terminal)
Hydra vulgaris attenuata Pall.	♂: 2n = 32 primäre Spermatocyte: 16 Tetraden sekundäre Spermatocyte: 16 Dyaden ♀: 2n = 32	♂: 16 ♀: 16	♂: 2 ♀: 2	♂: 14 ♀: 14
Hydra circumcincta P.Sch. ♂♀	2n = 30 primäre Spermatocyte: 15 Tetraden	16	2	12
Pelmatohydra oligactis Pall. (=Hydra fusca) Geschl. unbek.	2n = 30	16	2	12

In keinem Fall findet Niiyama ein - von Struktur oder Verhalten her zu identifizierendes - Geschlechtschromosom. Das Karyogramm von Männchen und Weibchen sei vollständig identisch. Die Angaben von Niiyama können für circumcincta und fusca bestätigt und ergänzt werden, die für attenuata werden - sofern die untersuchten Arten identisch sind - berichtigt (siehe unten).

4.2.1. Mitotische Chromosomen von Hydra fusca L.

Da fusca als Testorganismus für das Studium der Differenzierung besonders geeignet ist (siehe 2.), wurden die Chromosomen dieser Art morphologisch eingehend untersucht. Weitere Arten dienten zum Vergleich (siehe unten).

Um gesicherte Aussagen zu bekommen, wurden mehrere Klone in gleicher Weise untersucht, ausgewertet und verglichen. Dabei wurde stets Material verwendet, das nicht unter Einwirkung von Colchizin oder anderer Mitosehemmer stand.

4.2.1.1. Mitotische Chromosomen der Männchen von fusca

Die Abbildung 11 zeigt das Karyogramm der mitotischen Prometaphase bei noch nicht optimaler Verkürzung der 2n = 30 Chromosomen. Die Anordnung erfolgte entsprechend den Prinzipien der Denver-Nomenklatur für den Menschen. Die niedrigsten Zahlen tragen die längsten Chromosomen, die höchsten bezeichnen die kürzesten. Geschlechtschromosomen sind nicht unterscheidbar (siehe oben). Zur Charakterisierung der Chromosomen spielt außer der Länge die Lage des Zentromers eine entscheidende Rolle. Sekundäre Einschnürungen (SAT-Zone) bzw. Satelliten sind nicht vorhanden. Die Chromatiden sind nur selten zu erkennen, in der eigentlichen Metaphase meist niemals.

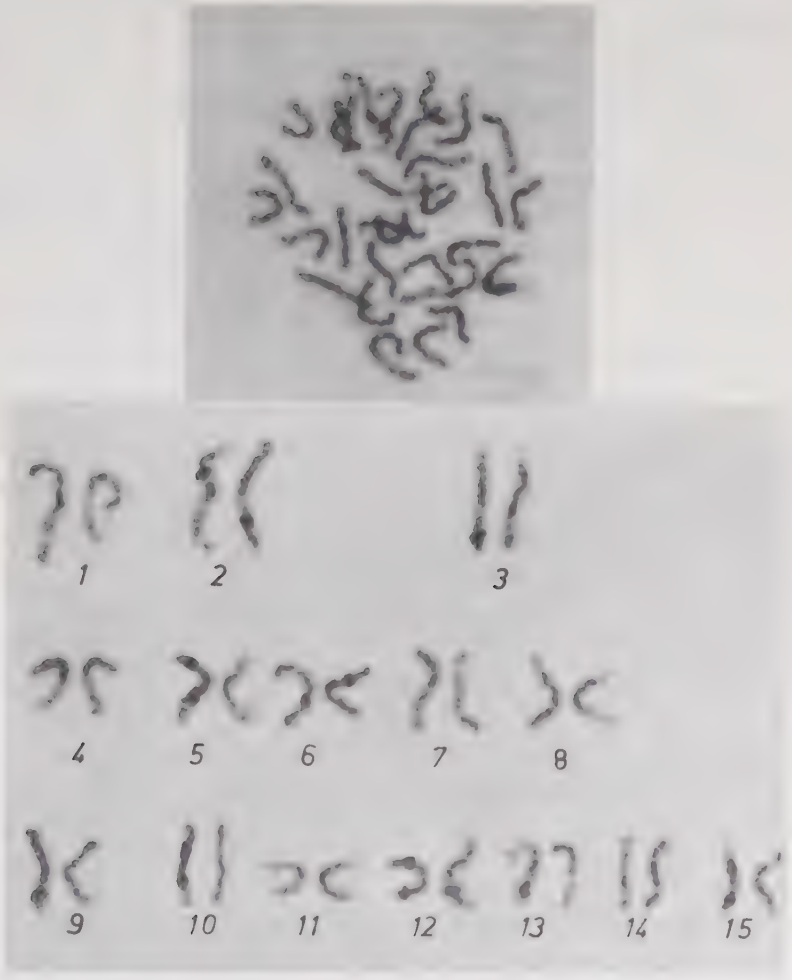


Abb. 11 a u. b: Karyogramm der mitotischen Prometaphase von Hydra fusca ♂, a: Vergr.: 2580 : 1; b: Vergr.: 2950 : 1

Als Prinzipien für die Gruppeneinteilung und Homologisierung der Chromosomen sind die relative Länge und die Lage des Zentromers verwendet worden. Unter der relativen Länge versteht man die Länge jedes Chromosoms bezogen auf die Summe der Einzellängen eines haploiden Chrmomsomensatzes (hier n = 15), dargestellt als Wert von 1000.

Für Männchen von Hydra fusca ergibt sich folgendes Bild (62 vergleichbare Zellen wurden analysiert):

Tab. 2: System der Chromosomen der Männchen von Hydra fusca

Gruppe	Chromosomen-Nr.	Position des Zentromers	durchschn. relative Länge eines Chromosoms des entsprechenden Paares	durchschn. absolute Länge eines Chromosoms des entspr. Paares in µm (Extreme in Klammern)
A	1	submedian	95,0 (± 3,2)	5,5 ($\pm^{3,4}_{2,1}$)
	2	± median	87,8 (± 3)	5,15 ($\pm^{3,3}_{2,6}$)
B	3	submedian	73,1 (± 3,4)	4,3 ($\pm^{3,0}_{2,4}$)
C	4	submedian	67,5 (± 3,3)	3,9 ($\pm^{2,8}_{2,2}$)
	5	submedian	67,5 (± 3,3)	3,9 ($\pm^{2,9}_{2,3}$)
	6	± median	67,0 (± 3,5)	3,8 ($\pm^{2,8}_{2,2}$)
	7	± median	67,0 (± 3,5)	3,8 ($\pm^{2,7}_{2,2}$)
	8	± median	67,0 (± 3,5)	3,8 ($\pm^{2,8}_{2,2}$)
D	9	± median	61,3 (± 3,4)	3,5 ($\pm^{2,3}_{1,7}$)
	10	± median	61,0 (± 3,4)	3,5 ($\pm^{2,3}_{1,7}$)
	11	± median	58,8 (± 3,4)	3,4 ($\pm^{2,2}_{1,7}$)
	12	± median	58,8 (± 3,6)	3,4 ($\pm^{2,3}_{1,7}$)
	13	submedian	58,8 (± 4,2)	3,4 ($\pm^{2,1}_{1,7}$)
	14	± median	56,8 (± 3,4)	3,3 ($\pm^{2,1}_{1,7}$)
	15	submedian	55,2 (± 5,6)	3,3 ($\pm^{2,0}_{1,6}$)

Die Einteilung in 4 Gruppen (A-D) ist nicht gesichert. Da die Zentromerregion nicht immer deutlich erkennbar ist, muß die Klassifikation vorläufig bleiben. Bestätigen läßt sie sich teilweise allerdings dadurch, daß die heterochromatischen Blocks in der Prophase meist mehr oder weniger metazentrisch sind (siehe Abb. 12b).

Eine Identifikation der Chromosomen innerhalb der Gruppen ist in vielen Fällen ebenfalls nicht möglich (Tabelle 2) und bleibt oft unsicher. Mit dieser Einschränkung ergibt sich folgendes Bild:

Die Gruppe A enthält die Chromosomen Nr. 1 und 2. Nr. 1 ist submetazentrisch, Nr. 2 metazentrisch. Auch aufgrund ihrer Länge sind beide meist leicht zu unterscheiden.

In der Gruppe B ist lediglich das Chromosomenpaar 3 enthalten, welches submetazentrisch ist.

Die Gruppe C enthält die Paare 4-8. Die Paare 4 und 5 sind leicht submetazentrisch und voneinander nicht zu unterscheiden. Ebenso sind die metazentrischen Paare 6,7 und 8 nur ausnahmsweise zu seriieren.

In der Gruppe D sind die Paare 9-15 vereint. Außer den Paaren 13 und 15, die submetazentrisch sind, sind alle anderen metazentrisch. Eine Unterscheidung ist zwischen 9 und 10, sowie zwischen 11, 12 und 13 meist nicht möglich.

Insgesamt sind 10 Paare metazentrisch und 5 Paare submetazentrisch. Die Längenmessung der mitotischen Chromosomensätze (Prometaphase und Metaphase; Prometaphase ist günstiger, weil die Chromosomen hier noch nicht so stark verkürzt sind, daß Längenunterschiede innerhalb der Gruppe nur schwer feststellbar sind) ergab für die zehn untersuchten Klone einen Mittelwert für die durchschnittliche Länge eines diploiden Chromosomensatzes (von Männchen der Art fusca) von 116 µm (Extremwerte 96 µm und

140 µm) (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Längenmessungen mitotischer Chromosomensätze von Hydra fusca Männchen, zehn verschiedene Klone.

$\frac{a+b}{2}$ = Halber Wert aller mitotischen Chromosomen.

Nr. des Klones	Anzahl ausgewerteter Zellen	$\frac{a+b}{2}$ (in µm)
O F. 17	7	58
O F. 18	10	58
12 F. 7	2	53
14 F. 3	4	<u>48</u>
21 F. 3	4	54
21 F. 4	3	63
21 F. 7	3	54
24 F. 13	3	<u>70</u>
24 F. 19	5	60
F. 6 F_1	21	62
	Σ : 62	Mittelwert der Klone: 58,4 (Extremwerte unterstrichen)

Bei diesen Messungen muß berücksichtigt werden, daß - zumal ohne Colchizineinwirkung gearbeitet wurde - in der Mitose kein absolut stationäres Stadium zu finden ist. Überdies sind bei Hydra bei den mitotischen Chromosomen in den Somazellen meist nicht die Chromatiden sichtbar, so daß es schwierig ist, absolut vergleichbare Stadien zu untersuchen. Außerdem verhalten sich die Chromosomen, auch homologe, nicht völlig synchron (Eberle 1966). Außer präparativen Einflüssen ist darüber hinaus mit Meßungenauigkeiten zu rechnen.

Die Abbildungen 12 bis 15 zeigen die verschiedenen mitotischen Kernzustände der Männchen von Hydra fusca.

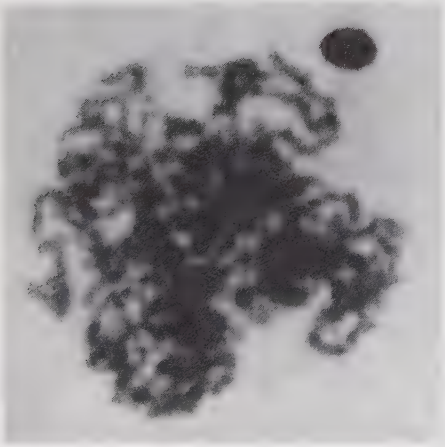


Abb. 12 a: Frühe Prophase Vergr.:2580:1

Abb. 12 b und c: Fortschreitende Prophasestadien. Die Chromatiden werden sichtbar, die Spiralisation ist deutlich. Eu- und Heterochromatin kann unterschieden werden. Vergr.: 2580:1

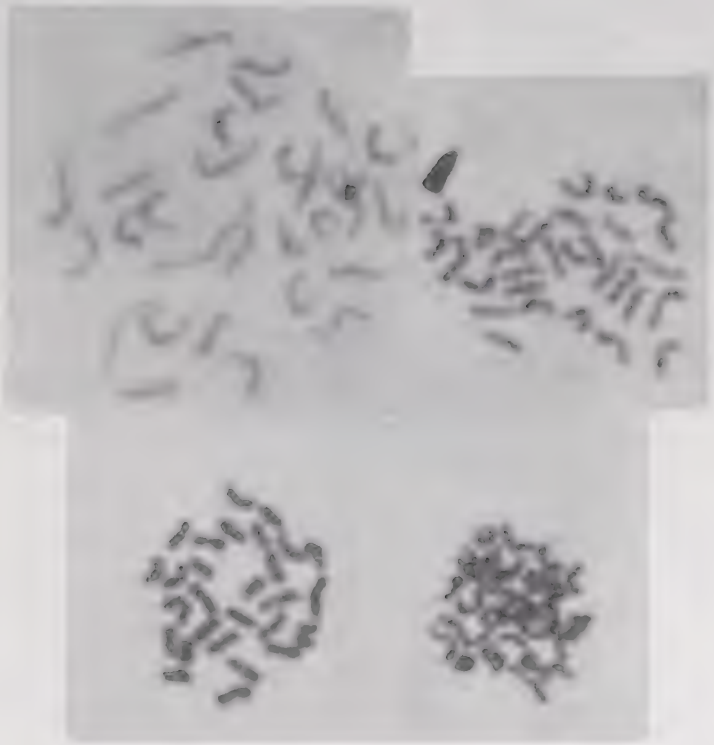


Abb. 13 a-d: Fortschreitende Metaphasestadien. Die Chromatiden können erst gegen Ende der Metaphase wieder unterschieden werden. Die Anfärbbarkeit wird uniform. Vergr.: 2580:1

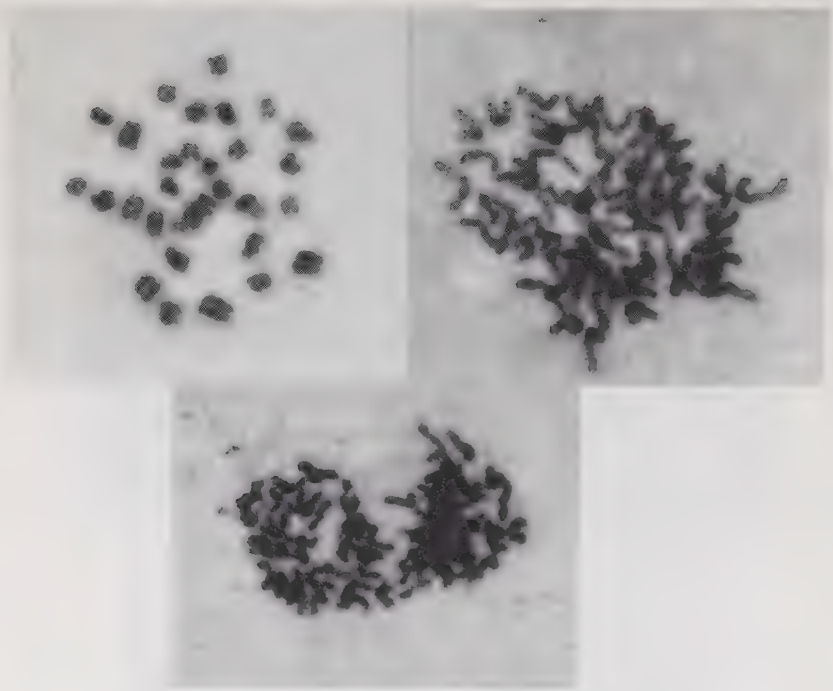


Abb. 14 a, b und c: Fortschreitende Anaphasestadien. Vergr.: 2580:1

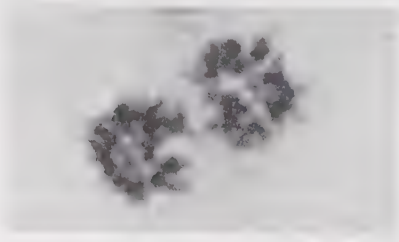


Abb. 15: Frühe Telophase. Vergr.: 2580:1

Die Chromatiden sind bei allen Hydra-Arten nur in der Prophase deutlich zu sehen (Abb. 12); sie verschwinden zu Beginn der Metaphase (Abb. 13), um ganz zum Ende der Metaphase wieder darstellbar zu werden (s. Abb. 13c, einzelne Chromatiden schon sichtbar).

Abb. 13d zeigt die Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialebene von der Polansicht.

Die stärkste (durch Spiralisation hervogerugene) Verkürzung erfahren die Chromosomen zu Beginn der Anaphase (Abb. 14). Die Spiralisation ist hier kaum noch sichtbar, im Gegensatz zur Prophase, wo sie z.T. deutlich darstellbar ist (Abb. 12). Die Anfärbbarkeit der Chromosomen wird mit der Metaphase uniform, während der Prophase sind Eu- und Heterochromatin unterscheidbar.

4.2.1.2. Mitotische Chromosomen der Weibchen von Hydra fusca

Abbildung 16 zeigt das Karyogramm der mitotischen Metaphase der weiblichen Chromosomen.

Bei der Gruppeneinteilung und Homologisierung der weiblichen Chromosomen ergibt sich die gleiche Situation wie bei den Männchen (Tab. 4; 23 Zellen wurden ausgewertet).

Die relativen Längen der einzelnen Chromosomenpaare überschneiden sich immer mit denen der Männchen. Dabei ist aber zu beachten, daß in dem untersuchten Material nur 23 Zellen einwandfreie Karyotypanalysen zuließen. Neben den schon bei den Männchen erwähnten Unsicherheiten sind darüberhinaus feine Unterschiede aufgrund unzureichenden Materials nicht zu erfassen.

Vergleicht man die Längenmessungen der mitotischen Chromosomen von Männchen und Weibchen, so ist auch hier eine weitgehende Übereinstimmung

festzustellen (Tab. 5). Der durchschnittliche Mittelwert der Länge der diploiden Chromosomensätze beträgt hier 109,2 µm; bei Männchen war der Wert 116 µm.

Abb. 16 a und b: Karyogramm der mitotischen Metaphase von Hydra fusca ♀, Vergr.: 2580:1

Tabelle 4: System der Chromosomen der Weibchen von Hydra fusca.

Gruppe	durchschnittl. rel. Länge e. Chromosoms des entspr. Paares	Zum Vergleich fusca-Männchen: rel. Länge der Chromosomen
A	95,2 (± 3,0)	95,0 (± 3,2)
	89,9 (± 3,0)	87,8 (± 3,1)
B	79,3 (± 3,9)	73,1 (± 3,4)
C	71,4 (± 3,6)	67,5 (± 3,3)
	71,4 (± 3,6)	67,5 (± 3,3)
	71,4 (± 3,6)	67,0 (± 3,5)
	71,4 (± 3,6)	67,0 (± 3,5)
	68,7 (± 3,0)	67,0 (± 3,5)
D	60,8 (± 2,9)	61,3 (± 3,4)
	60,8 (± 2,9)	61,0 (± 3,4)
	55,5 (± 3,3)	58,8 (± 3,6)
	52,9 (± 3,7)	58,8 (± 3,6)
	52,9 (± 3,7)	58,8 (± 4,2)
	50,3 (± 4,0)	56,8 (± 3,4)
	47,6 (± 5,4)	55,2 (± 5,6)

Tabelle 5: Längenmessungen mitotischer Chromosomensätze von Hydra fusca Weibchen; drei verschiedene Klone.

Nr. des Klones	Anzahl ausgewerteter Zellen	$\frac{a+b}{2}$ (in µm)
III f. 1	4	63
III f. 3	2	45
14 f. 3	17	56
	Σ: 23	Mittelwert der Klone: 54,6 Extremwerte unterstrichen

Zum Vergleich Männchen: $\frac{a+b}{2}$ (in µm): Mittelwert der Klone 58,0
Extremwerte 48,0 und 70,0

Die verschiedenen mitotischen Kernzustände der weiblichen Chromosomen (Abb. 17 a-g) zeigen ebenso wie die der Männchen keine Besonderheiten, wie z.B. heterochromatische Blocks bzw. inaktive Chromosomen, und es besteht kein Unterschied zu der Situation bei den Männchen (Abb. 12-15). Es sind weder morphologisch noch dem Verhalten nach während der Kernteilung Geschlechtschromosomen identifizierbar, die gerade bei fusca aufgrund des Gonochorismus erwartet werden könnten.

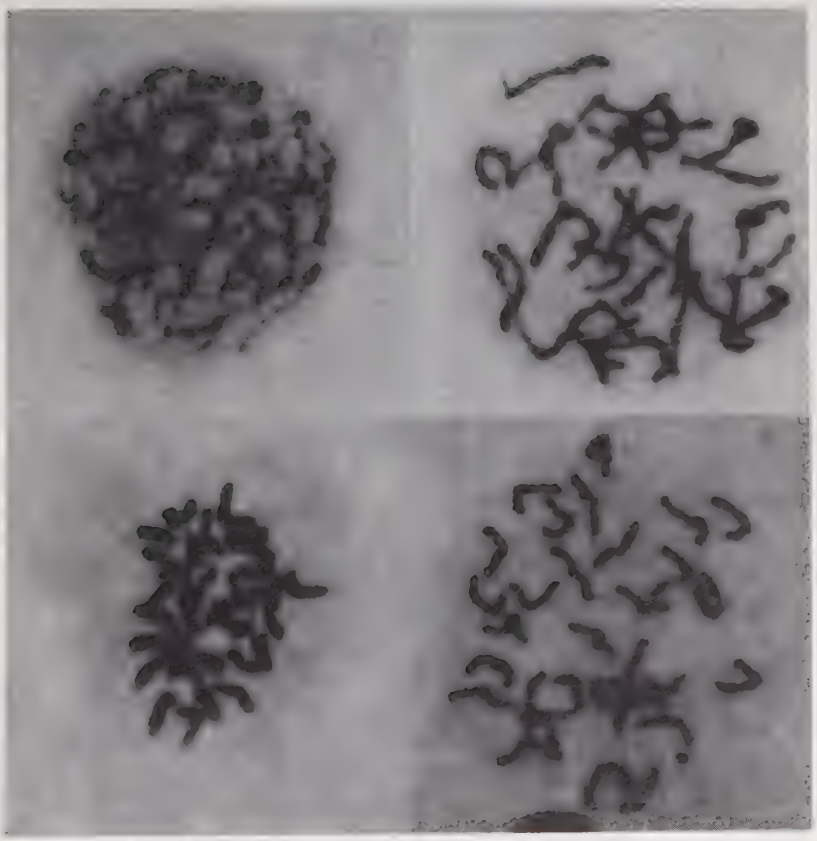


Abb. 17 a-d

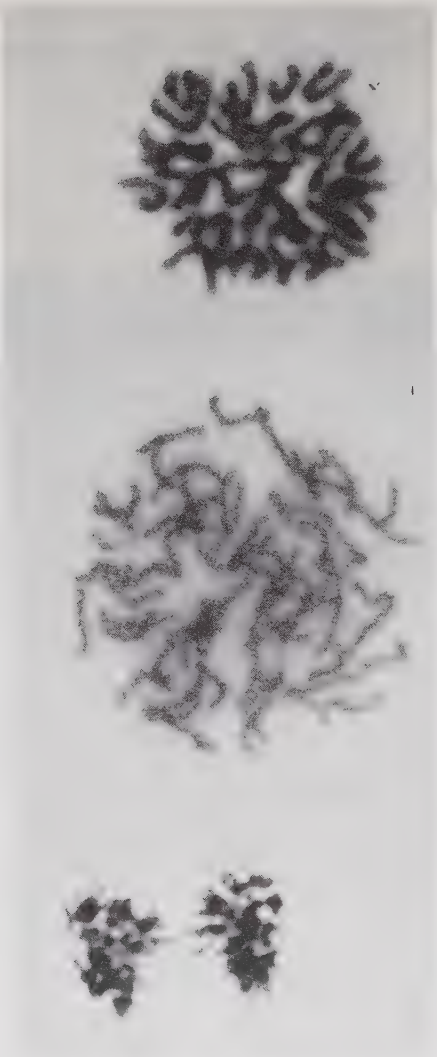


Abb. 17 a-g: Mitotische Kernzustände der Weibchen von Hydra fusca. Prophase bis Anaphase. a: Prophase, b: späte Prophase, c u. d: Metaphase, e: späte Metaphase, Äquatorialplatte, f u. g: frühe und späte Anaphase. Vergr.: 2580:1

4.2.2. Meiotische Chromosomen bei Hydra fusca

Außer den oben angegebenen, meist falschen Angaben über meiotische Chromosomen finden sich nur wenige Arbeiten, die die zellulären Verhältnisse während der Spermiogenese z.T. ausführlich beschreiben, die Kernverhältnisse aber nur sehr unvollkommen wiedergeben (Downing 1905, Brien 1961 a, Brien 1961 b).

Die zellulären Verhältnisse während der Oogenese sind in der Literatur z.T. widersprüchlich beschrieben und werden weiter unten (4.3.) gesondert behandelt.

Über die Struktur meiotischer Chromosomen ist nichts bekannt.

4.2.2.1. Meiotische Chromosomen während der Spermiogenese

Die zellulären Vorgänge bei der Spermiogenese laufen bei Hydra prinzipiell so ab wie bei den meisten höheren Organismen.

In der mittleren Körperregion vermehren sich I-Zellen (Spermatogonien) mitotisch, bilden Spermatocyten 1. Ordnung und durchlaufen bündelweise synchronisiert die Meiose.

Nach der Spermiogenese liegen die Spermien mit den Köpfen zusammen. Die Abgabe erfolgt portionsweise durch eine Lücke des Ektoderms, welche die einzelnen Hoden umgibt.

Die Chromosomen machen während der Meiose, die auf Präparaten von (20 Tage bei 9°C gezüchteten)Männchen analysiert wurde, die bekannten charakteristischen Formveränderungen durch, wie die Abbildungen 18 bis 32 zeigen. Dabei sind gerade auch in der gegenüber der Mitose enorm verlängerten Prophase die Chromosomenstrukturen für die einzelnen Phasen zwar charakteristisch, aber dennoch muß beachtet werden, daß es sich um fließende Vorgänge handelt.

Die Dauer der verschiedenen Zustände während der Prophase wurde nicht bestimmt; anhand ihrer Häufigkeit muß aber geschlossen werden, daß - wie allgemein zu erwarten - das Pachytän und die Diakinese mit Abstand die längsten Phasen repräsentieren. Im sogenannten prämeiotischen "Ruhekern" (physiologisch aktiv) (Abb. 18) finden sich wenige heterochromatische Blocks im relativ dichten Chromatin.

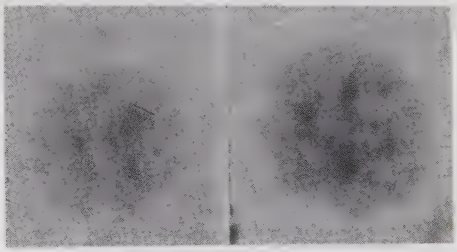


Abbildung 18 a u. b: Prämeiotische "Ruhekern", ca. 10 µm Durchmesser. Einige nicht scharf begrenzte Chromozentren liegen im dicht gepackten Chromatin. Vergr.: 2580:1

Zu Beginn der Meiose wird im Leptotän (Abb. 19) unter Volumenzunahme das Euchromatin aufgelockert und streckenweise schon - im Gegensatz zur Mitose ungeteilt - verfolgbar. Die Chromozentrenzahl erhöht sich auf etwa 30; ihre Masse ist geringer als die in den Ruhekernen. Nach weiterer Dekondensation wird das Chromosomenmaterial ziemlich einheitlich, um danach in die meiotische Spiralisation und anschließend in die Konjugation der homologen Chromosomen einzutreten. Die Spiralisation (Verkürzung) nimmt dann bis zur Metaphase-I zu. Die Konjugation wird im Zygotän (Abb. 20) weiter durchgeführt, um schließlich im Pachytän zu dem Stadium stabiler Chromosomenpaarung zu führen (Abb. 21 und 22).

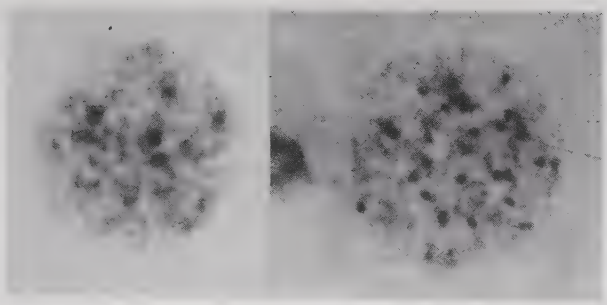


Abbildung 19 a und b: a: Übergang vom "Ruhekern" zum Leptotän. Noch sind nur wenige heterochromatische Blocks zu sehen.
b: Frühes Leptotän mit etwa 30 Chromozentren und fädigem Chromatin. Der Durchmesser hat auf etwa 18 µm zugenommen. Vergr.: 2580:1

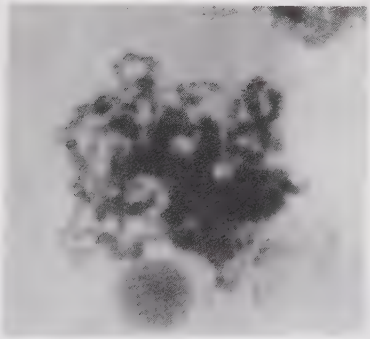


Abbildung 20: Zygotän: In einem stärker gespreiteten Kern sieht man die schon fortgeschrittene Spiralisation und Konjugation. Vergr.: 2580:1

Das Zygotän stellt dabei den relativ schnellen Übergang vom Leptotän zum Pachytän dar. Schon von Beginn des prämeiotischen "Ruhekerns" an liegen bei dem Untersuchungsmaterial oft zwei Zellen zusammen, die sich völlig synchron verhalten (Abb. 21b).

Während des lange dauernden Pachytäns sind die Chromosomen zunächst intensiv gepaart und homologe Chromosomen nur als einheitliche Struktur zu erkennen. In dieser Zeit liegt die Ausbildung der cross-over, später als Chiasmata sichtbar. Zu Beginn des Pachytäns sind die Chromosomenkonturen wegen der Spiralisationssysteme noch unschärfer als später. Da der Querdurchmesser der Chromosomen bis zum Pachytän um ein Vielfaches gestiegen ist, ist anzunehmen, daß auch hier sich überlagernde Minor- und Majorspiralen vorhanden sind. Im späten Pachytän sind einzelne Chromosomenabschnitte stärker kondensiert. Fraglich ist, ob diese Chromozentren den heterochromatischen Abschnitten im "Ruhekern" gleichzusetzen sind. Gleichzeitig wird gegen Ende des Pachytäns der Reduktionsspalt zwischen den Chromosomen sichtbar (Abb. 22).

In diesem Stadium ist die Spiralisation so weit fortgeschritten, daß die einzelnen Chromosomenpaare (n= 15) getrennt dargestellt werden können.

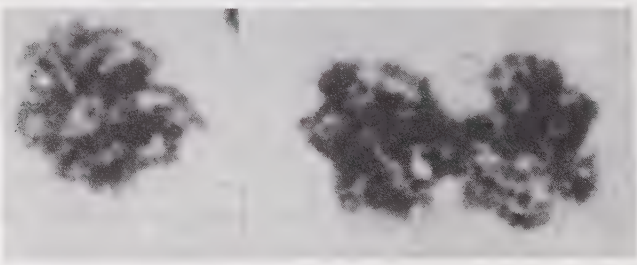


Abbildung 21 a und b: Mittleres Pachytän. b: Oft liegen zwei sich synchron verhaltende Zellen vom Leptotän an zusammen. Vergr. 2580:1

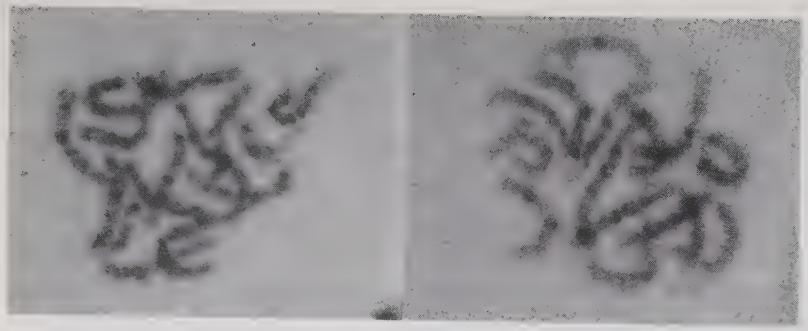


Abbildung 22 a und b: Spätes Pachytän mit einzelnen Chromosomenpaaren. Reduktionsspalt teilweise deutlich sichtbar. Einige heterochromatische Blocks sind vorhanden. Vergr.:2580:1

Nach dem Pachytän, im Diplotän (Abb. 23), rücken die homologen Chromosomenabschnitte sukzessive auseinander, sofern sie nicht infolge der crossover durch Chiasmata verbunden sind. Von diesem Stadium ab spricht man deshalb auch von Bivalenten.

Die Ausbildung von Chiasmata führt zu meist schlaufenförmigen Gebilden. Gegen Ende des Diplotäns wandern die Chiasmata dann zu den Chromosomenenden (Terminalisierung, Swanson 1957).

Zu Beginn des Diplotäns sind die Konturen der Chromosomen stets mehr oder weniger verwaschen (Abb. 23 a).

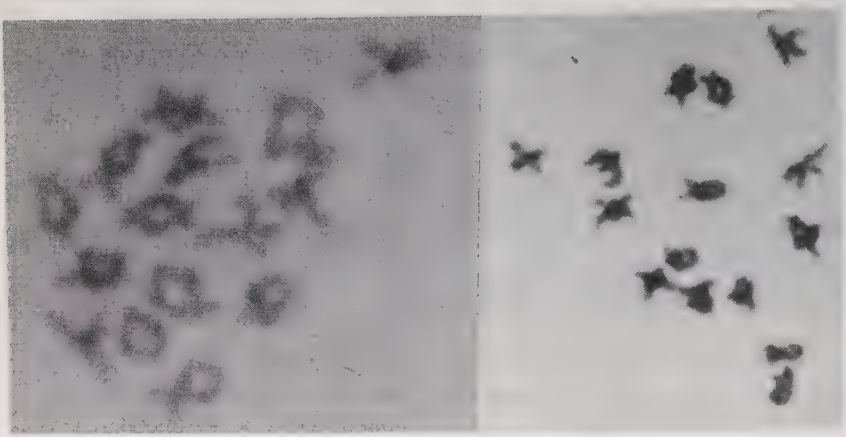


Abbildung 23 a u. b: Diplotän. Die noch nicht terminalisierten Chiasmata führen zu schlaufenförmigen Bivalenten.
a: Zu Beginn des Stadiums verwaschene Chromosomenkonturen. Vergr.: 2580:1.

In der Diakinese (Abb. 24) sind die 15 Bivalente stark spiralisiert und zeigen wegen der Terminalisierung der Chiasmata häufig ringförmige Anordnung der Chromosomen.

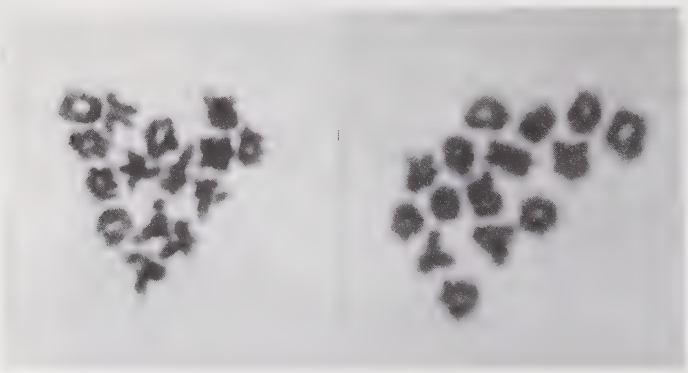


Abbildung 24 a und b: Diakinese. Häufig durch Terminalisierung der Chiasmata ringförmige Struktur der Bivalente. Vergr.:2580:1

In der anschließenden Metaphase-I (Abb. 25) wandern die maximal verkürzten, gekoppelten homologen Chromosomen mit den Chiasmata voran in die Äquatorialebene, um sich dann in der Anaphase-I (Abb. 26) zu trennen und zu den Polen gezogen zu werden. Damit ist in der ersten meiotischen Teilung die Chromosomenzahl auf die Hälfte reduziert worden.

Die meiotische Meta- und Anaphase-I-Chromosomen sind von den längeren und stets schärfer konturierten der mitotischen Metaphase leicht zu unterscheiden (Abb. 27).

Erst in der späten Anaphase-I werden die Chromatiden sichtbar (Abb. 26b).

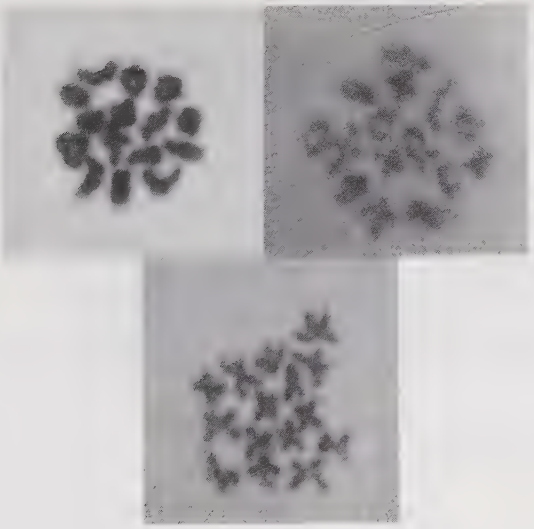


Abbildung 25 a, b und c: Metaphase-I. Einordnung der Bivalente in die Äquatorialebene und anschließende Divergenz der Arme der homologen Chromosomen. Vergr.: 2580:1

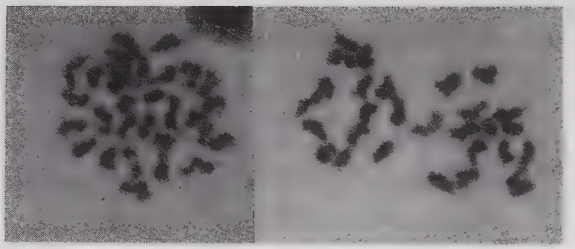


Abbildung 26 a und b: Anaphase-I. Die Chromosomen wandern zu den Polen, Chromatiden werden sichtbar (b). Vergr.: 2580:1

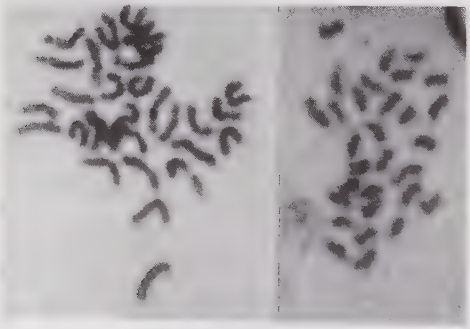


Abbildung 27 a und b: Vergleich von mitotischen Metaphase-Chromosomen und meiotischen Anaphase-I-Chromosomen, die allein aufgrund der Anzahl (30) zu verwechseln sind.
a: Mitotische Metaphase mit längeren, schärfer konturierten Chromosomen als in b (eine frühe meiotische Anaphase).In beiden Fällen werden Chromatiden erst zum Ende der jeweiligen Phase sichtbar.

Sind die Chromosomen an den Polen angelangt, so folgt in der anschließenden Telophase-I (Abb. 28) wahrscheinlich (die Einordnung entsprechender Bilder ist nicht völlig sicher) eine teilweise Entspiralisierung, wobei aber die Chromatiden in gespreiztem Zustand schwach sichtbar bleiben, vor allem in der Zentromerregion, in der sie zusammenhängen.

Ob eine Kernmembran gebildet wird und sich eine Interkinese anschließt, kann nicht beurteilt werden. Auffallend ist jedenfalls, daß die beiden Tochterkerne praktisch immer beieinander liegen bleiben (Abb. 28 ff), so daß es synchron zur Ausbildung von je vier nebeneinanderliegenden Telophase-II-Kernen bzw. Spermatiden kommt.

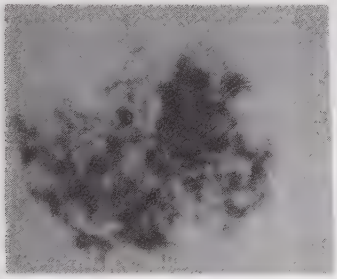


Abbildung 28: Zwei Telophase-I-bzw. Interkinese-Kerne mit teilweise entspiralisierten Chromosomen. Heterochromatin noch gut sichtbar. Vergr.: 2580:1

In der sich der Telophase-I bzw. Interkinese anschließenden Metaphase-II (Abb. 29) sind die Chromosomen wieder stärker spiralisiert. Ihre Chromatiden spreizen im Gegensatz zur mitotischen Metaphase. Eine gewisse

Ähnlichkeit zeigen die Figuren zur Metaphase-I, wo die Chromosomenarme spreizen. Die Unterscheidung wird aufgrund der Größe der Chromosomen getroffen (Abb. 30). Außerdem liegen in der Metaphase-II immer zwei synchrone Kerne beisammen, in der Metaphase-I hingegen ist das nur selten anzutreffen. (Die genaueren Methoden von DNA-Messungen wurden nicht angewandt.)

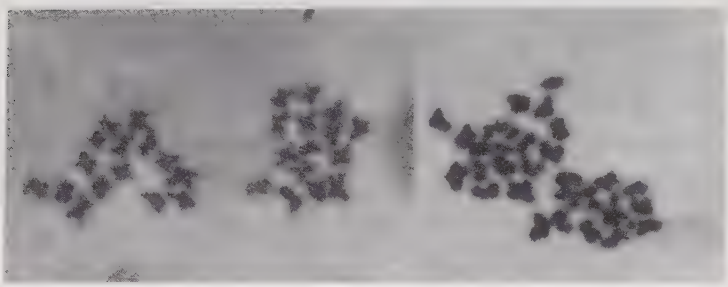


Abbildung 29 a und b: Metaphase-II. Chromosomen immer zweier Kerne liegen in der Äquatorialebene mit gespreizten Chromatiden und beginnen sich synchron zu teilen (b). Vergr.: 2580:1

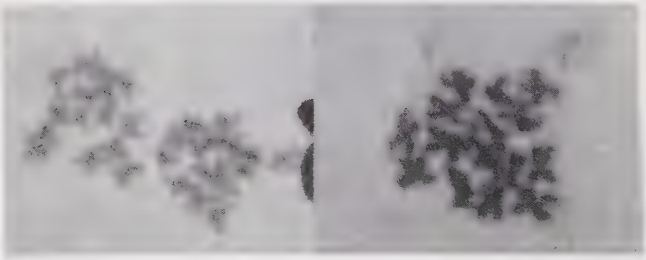


Abbildung 30 a und b: Vergleich von meiotischen Metaphse-II- und Metaphase-I-Chromosomen. Vergr.: 2580:1
a: Die kleineren Metaphase-II-Chromosomen in zwei beieinanderliegenden Kernen mit gespreizten Chromatiden.
b: Metaphase-I-Chromosomen mit gespreizten Chromosomenarmen.

Im Anschluß an die Metaphase-II teilen sich die Chromosomen in der Anaphase-II (Abb. 31) in die Chromatiden, welche zu den Polen wandern. Danach bilden sich in der Telophase-II aus den ehemals zwei Metaphase-Kernen vier Spermatidenkerne (Abb. 32), die einen Durchmesser von ca. 5 µm haben. (Der prämeiotische "Ruhekern" hat ca. 10 µm Durchmesser, der Leptotän-Kern ca. 18 µm).

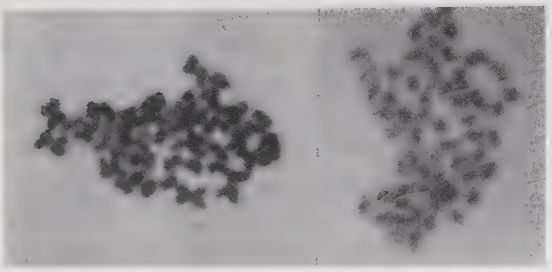


Abbildung 31 a und b: Synchrone Anaphase-II von zwei zusammenliegenden Kerne.
a: Frühe Anaphase-II. Die Chromatiden hängen zum Teil noch zusammen.
b: Die Chromatiden werden auf die Pole verteilt.
Vergr.: 2580:1

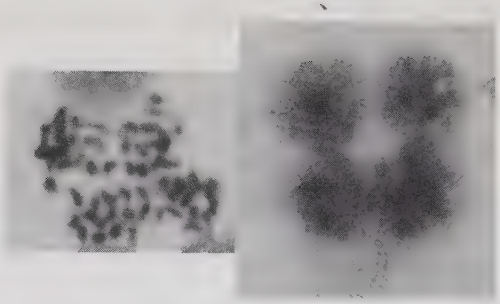


Abbildung 32 a und b: Telophase-II bzw. Spermatiden-Kerne.
a: Frühe Telophase. Die Chromosomen sind auf die Pole verteilt.
b: Späte Telophase. Nur noch einige Chromozentren sind im dichtgepackten Chromatin zu erkennen.
Aus jedem dieser vier Spermatiden-Kerne pro Spermatocyt-I wird während der Spermiohistogenese ein Spermium. Vergr.: 2580:1

Hatte die Untersuchung der Mitose die Chromosomenzahl von 30 ergeben, so zeigt die Meiose, daß Hydra fusca Männchen diploid mit n = 15 sind. Die Spermiogenese verläuft nach dem weit verbreiteten Schema über Spermatogonien, Spermatocyten-I und -II und führt zu vier haploiden Spermatidenkernen. Die Chromosomen verhalten sich untereinander in den Stadien gleich,und es gibt auch hier keinen Hinweis auf ein Geschlechtschromosomen. Die Meiose selbst läuft nach bekanntem Muster ab.

4.2.2.2. Meiotische Chromosomen während der Oogenese

Da weiter unten (4.3.) ausführlich auf die zellulären Verhältnisse während der Oogenese bei Hydra fusca eingegangen wird, sollen hier nur die Chromosomenveränderungen während der Meiose dargestellt werden.

Die Präparate wurden von Tieren gewonnen, die 25 bis 30 Tage bei einer Temperatur von 9°C gestanden hatten und an denen die ersten Eier (unbefruchtet) zum Teil schon zerlaufen waren, während sich die nächsten in verschiedenen Bildungsstadien befanden. Obwohl - als "Pseudozellen" (siehe 4.3.) in das Ei eingehend - auch bei der Oogenese der Spermiogenese vergleichbar viele I-Zellen beteiligt sind, ist es unvergleichlich viel schwieriger, auswertbare Bilder der verschiedenen Meiose-Stadien zu bekommen. Es laufen pro Tier ja nur ca. 4 bis 7 Meiosen entsprechend der Eizahl ab. Aus diesem Grund ist das vorhandene Material nicht so vollständig wie bei der Meiose während der Spermiogenese. Soweit beurteilbar verlaufen aber die Meiosen in beiden Fällen prinzipiell gleichartig, wie Abbildung 33 im Vergleich zu den entsprechenden (18 bis 32) zeigt. Auch die Weibchen sind diploide Organismen.

Da das Material bei der Oogenese lückenhaft ist, sind nicht beobachtete Unterschiede allerdings nicht mit Sicherheit auszuschließen.

Bis zur Diakinese ist das Bild der Chromosomen bei Männchen und Weibchen weitgehend identisch. Vom Diplotän konnten keine befriedigenden Präparate erhalten werden und so findet sich auch kein Hinweis auf Lampenbürstenchromosomen, die bei der angewandten Präparationsmethode allerdings kaum darstellbar sind.

Der Metaphase bei der Oogenese scheint die für diese Phase bei der Spermiogenese charakteristische kreuzförmige Anordnung der Chromosomen weitgehend zu fehlen (vgl. Abb. 33e und 25c).

Geschlechtschromosomen können auch hier während der Meiose nicht unterschieden werden.

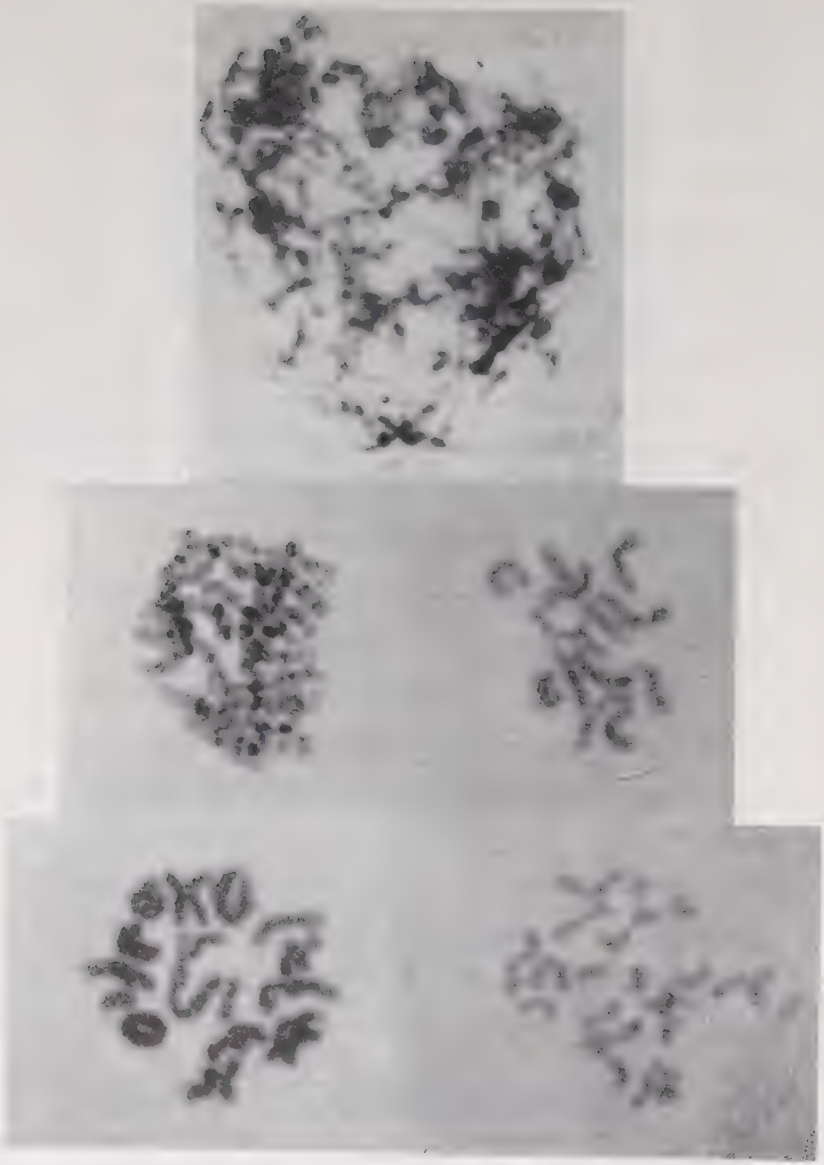


Abbildung 33 a - e

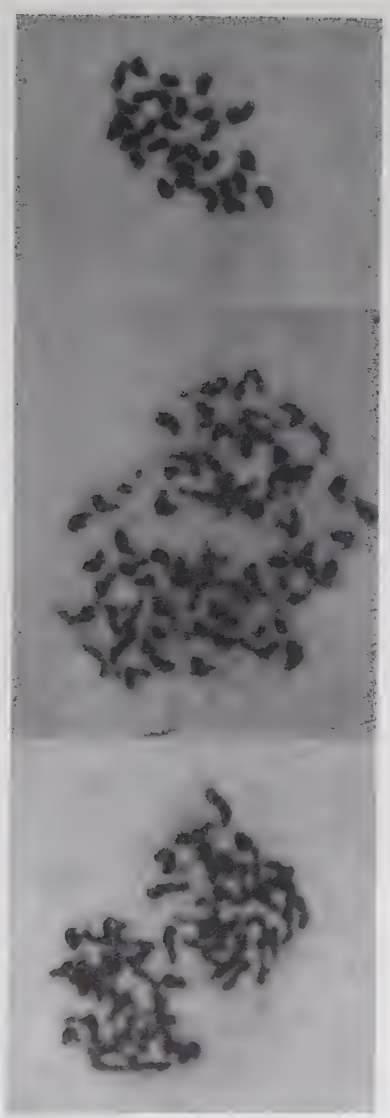


Abbildung 34 a - h: Meiose während der Oogenese. a: Leptotän,
b und c: Pachytän, d: Diakinese, e: späte Metaphase-I,
f: Anaphase-I, g: Anaphase-II, h: Anaphase-II(?).
Weitere Erklärungen siehe im Text. Vergr.: 2580:1

4.2.3. Chromosomenverhältnisse und Meiose bei weiteren untersuchten Arten

Da von anderen Arten selten in ausreichender Anzahl sexuelles Material zur Verfügung stand, wurde die Mitose und Meiose zum Vergleich bei Männchen der amerikanischen Art littoralis untersucht. Die mitotischen Chromosomenzahlen wurden bei den weiteren einheimischen Arten attenuata, vulgaris, viridis, circumcincta, polygonata nov. spec. und autumnalis nov. spec. bestimmt.

4.2.3.1. Mitose und Meiose bei Männchen von Hydra littoralis Hyman

Um bei einer weiteren Art die Chromosomenverhältnisse genauer belegen zu können und um zu sehen, ob sie ebenfalls diploid ist, wurde die Mitose und Meiose bei Hydra littoralis (Stamm O li 3♂) untersucht. Vor allem zwei Gründe sprachen für die Auswahl dieser Art:

1. Fusca und littoralis sind sicher nicht nahe verwandt, so daß eventuelle Unterschiede innerhalb der Gattung Hydra möglicherweise hier auftreten könnten.

2. Die sexuelle Differenzierung ist bei littoralis durch den CO_2-Partialdruck in der Lösung zu steuern (Loomis 1957), so daß zu gewünschter Zeit sexuelle Tiere zu bekommen sind.

Abbildung 34 zeigt die Mitose bei littoralis, welche (vergl. Abb. 12-14) ebenso wie bei fusca abläuft (Erläuterungen siehe deshalb dort).

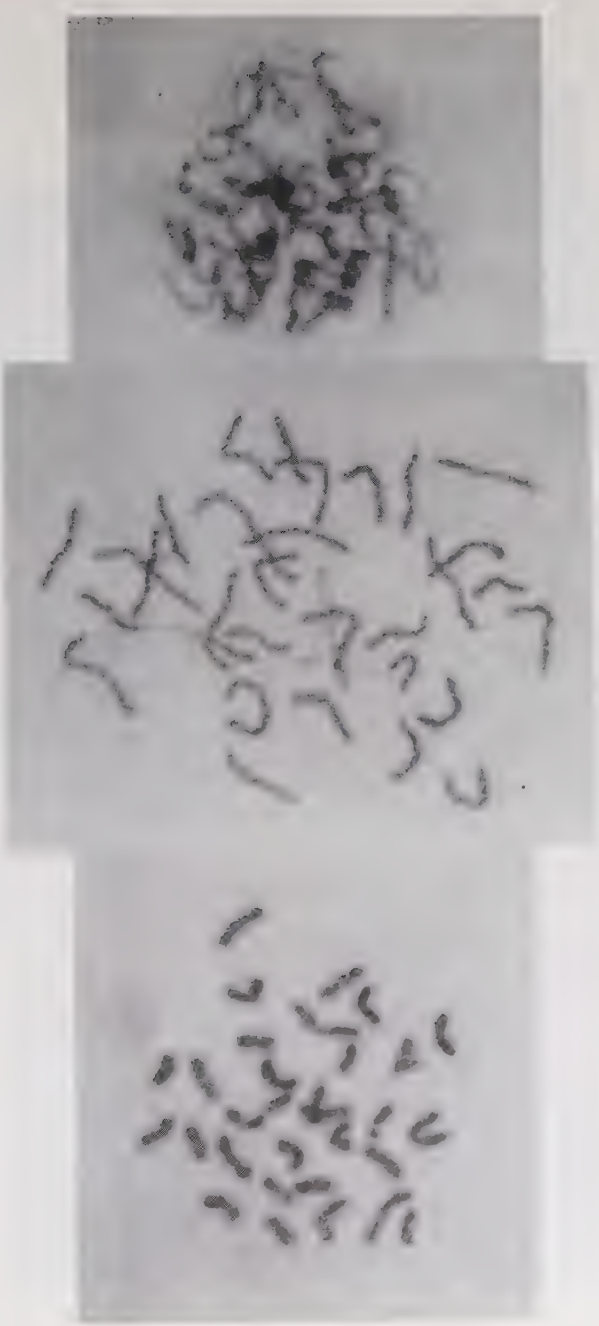


Abbildung 34 a - c

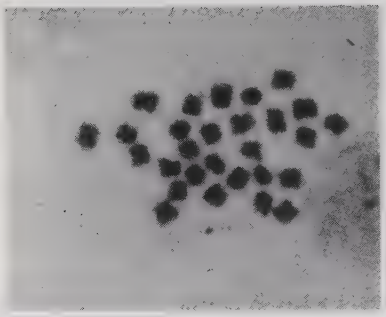


Abbildung 34 a - d: Mitose der Männchen von Hydra littoralis.
a: Prophase, b u. c: Metaphase, in c schon Chromatiden sichtbar, d: Anaphase (zwei Chromosomen verlorengegangen). Vergr.: 2580:1

Bei littoralis sind wie bei fusca 30 Chromosomen vorhanden. Wie die Meiose zeigt (Abb. 35) ist littoralis mit 2n = 30 auch diploid. Gründe, weshalb diese Tatsache für die anderen Arten nicht gelten sollte, gibt es meines Erachtens nicht, obwohl entsprechende Untersuchungen fehlen.

Im einzelnen gleicht die Meiose bei littoralis der bei fusca (siehe Abb. 21-32).

Wie die Vergleiche von fusca und littoralis zeigen, ist zu erwarten, daß die Tiere der Gattung Hydra diploid mit 2n = 30 Chromosomen (siehe auch 5.2.3.2.) sind und daß die Meiose nach dem oben beschriebenem Muster abläuft.

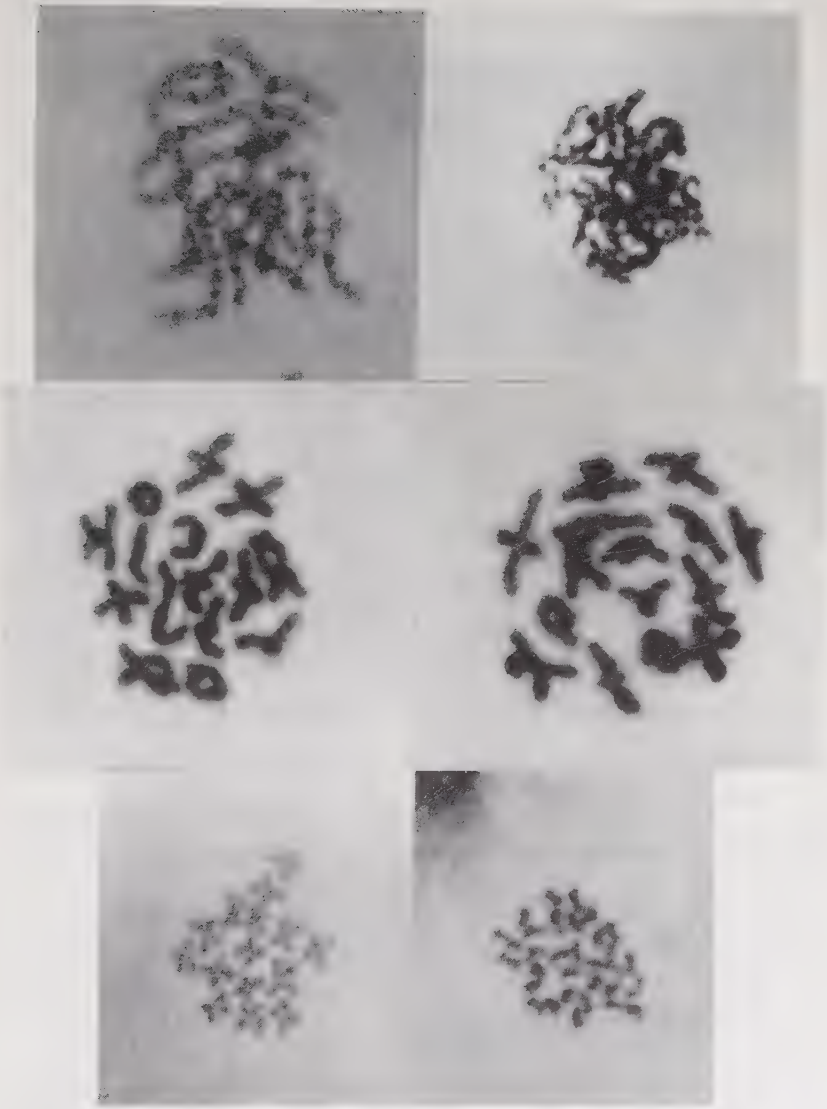


Abbildung 35 a - f

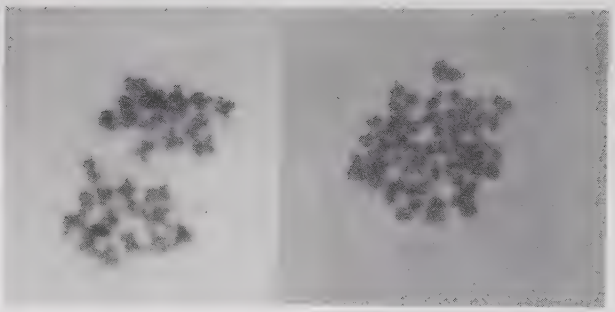


Abbildung 35 a - h: Meiose der Männchen von Hydra littoralis.
a u. b: Pachytän, c u. d: Diakinese,
e: Metaphase-I, f: Anaphase-I, g: Metaphase-II,
h: Anaphase-II. Vergr.: 2580:1

4.2.3.2. Chromosomenzahlen weiterer einheimischer Hydra-Arten

Um die Chromosomenzahlen der weiteren zur Verfügung stehenden Arten attenuata, vulgaris, viridis, circumcincta, polygonata und autumnalis bestimmen zu können, wurde bei diesen Tieren die mitotische Metaphase ausgezählt. Bei allen Arten sind 30 Chromosomen vorhanden.

Fusca und littoralis sind mit n = 15 sicher diploid; wahrscheinlich trifft dieses auch für die anderen Arten zu.

4.2.4. Synchroner Ablauf der Mitosen

Unter gleichbleibenden Bedingungen stellt sich bei vegetativen Hydren ein Fließgleichgewicht zwischen neugebildeten und in irgendeiner Weise

"verbrauchten" Zellen ein, d.h. es werden durch Mitosen genausoviele Zellen gebildet, wie zur Knospung und zum Nesselzellenersatz benötigt werden.

Versucht man, die Faktoren, die dieses Fließgleichgewicht bestimmen, zu analysieren, so wird die Ernährung als ein gewichtiges Moment zu berücksichtigen sein. Erste Hinweise auf eine zeitliche Abhängigkeit der Mitosen (bei Epithelzellen und anderen Zellen) von dem Zeitpunkt des Fütterns fand Campbell (1967 a).

Später fand Corff (1971), daß möglicherweise die Mitosen bei Hydra synchron ablaufen. In ihrem Material fand sie Tiere, die das Stadium der Prophase (obwohl die längste Phase der Mitose) nur zu 2 bis 4% zeigten, in anderen hingegen fand sie nur die Prophase.
Um diese Frage (auch im Hinblick auf den günstigsten Zeitpunkt von Chromosomenpräparaten) zu untersuchen, wurden Präparate von Tieren, die 2 Tage gehungert hatten, zu verschiedenen Zeiten nach dem Füttern angefertigt. Um eventuelle Tagesrhythmen gleichzeitig festzustellen, bzw. um deren Einfluß auszuschalten, wurden zwei verschiedene Serien (je 10 Versuche mit je 10 Tieren; pro Art 3 verschiedene Stämme) hergestellt. Bei der ersten wurde um 8^{00} Uhr gefüttert und ab 11^{00} Uhr wurden alle 30 Minuten 24 Stunden lang Präparate angefertigt. In der zweiten Serie wurde um 20 Uhr gefüttert und ab 23 Uhr wurden die Präparate alle 30 Minuten über 24 Stunden angefertigt. Es zeigte sich, daß die Mitosen keiner Tagesrhythmik unterliegen, sondern ihr relativ synchronisierter Ablauf lediglich vom Zeitpunkt des Fütterns abhängt (Serie 1 und 2 zeigten keinen Unterschied - auch bei verschiedenen Stämmen).

Die Ergebnisse für die 4 untersuchten Arten sind in Tabelle 6 dargestellt.

Gezählt wurden Pro-, Meta- und Anaphasen. Voraussetzung für exakte Angaben ist dabei, daß keine Kernteilungsstadien selektiv verlorengehen. Solch ein Verlust ist bei der angewandten Präparationsmethode nicht zu erwarten (siehe 3.2.). Möglicherweise laufen allerdings während der Präparation bestimmte Mitosestadien auf, so daß dann die Anzahl der auf den Präparaten gezählten Mitosen zu hoch läge.

Wie Tabelle 6 zeigt, treten bei den verschiedenen Arten zwar leichte Unterschiede auf, aber insgesamt ergibt sich ein relativ synchroner Ablauf der Mitosen ca. 9 Std. nach dem Füttern.

Tabelle 6: Abhängigkeit des synchronen Mitoseablaufs vom Zeitpunkt des Fütterns. Gezählte Mitosen pro 10000 Zellen.

Art	Zeitpunkt nach dem Füttern in Std.																				
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
fusca	0	1	0	3	2	15	10	4	5	3	2	3	4	1	1	2	0	1	0	1	1
attenuata	1	0	2	2	7	9	1	3	2	0	0	1	3	2	1	0	1	1	1	0	0
viridis	0	0	0	3	3	8	6	2	1	2	1	2	5	1	1	2	0	0	0	2	0
polygonata nov. spec.	1	1	1	4	7	12	3	4	2	2	0	1	3	2	1	1	1	1	0	1	1

Über andere Faktoren, die Einfluß auf die Mitose haben, kann nichts ausgesagt werden. Auch wurde nicht untersucht wo die Mitosen ablaufen (s. Corff 1969). Erst wenn diese beiden Punkte weiter geklärt sind, wird es möglich sein, den eventuellen Zusammenhang von Mitosen und Morphogenese genauer zu untersuchen (siehe auch 2.).

Auch die Frage der Generationszeit der verschiedenen Zelltypen bleibt offen, wobei die Ergebnisse möglicherweise auf eine Generationszeit

bestimmter Zellen von 7 Stunden hindeuten, da nach dem ersten Anstieg der Mitosen 9 Std. nach dem Füttern ein kleinerer zweiter nach weiteren 7 Std. auftritt.

4.3. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Oogenese bei Hydra fusca

4.3.1. Sexuell nicht differenzierte Tiere

Vor allem der sehr gründlichen Arbeit von Brauer (1891) ist es zu verdanken, daß über die zellulären Vorgänge der Oogenese bei Hydren mehr bekannt ist als über die karyologischen.

Die eigenen Untersuchungen wurden an fusca durchgeführt, weil diese Art durch Temperaturen um und unter 9°C reproduzierbar sexuell induziert werden kann.

Abb. 36 zeigt den Querschnitt bei einem asexuellen Tier in der Gastralregion, in der auch die Eier gebildet werden. Neben I-Zellen (deren Feinstruktur und weitere elektronenoptische Untersuchungen asexueller Hydren sind u. a. bei Lenhoff et al. 1968, Gauthier 1963, Lentz 1966, Davis et al. 1966 und Burnett 1972 zu finden), die plasmaarm sind und deren Kern meist einen deutlichen Nukleolus besitzt, finden sich vor allem verschiedene Bildungsstadien der Nesselkapseln (Cniden) in den von I-Zellen abstammenden Cnidoblasten (Abb. 36 a u. b). Während im Plasma der I-Zellen kaum endoplasmatisches Retikulum vorliegt, tritt dieses in den Cnidoblasten, in denen wie in den I-Zellen zahlreiche freie Ribosomen vorhanden sind, ausgedehnt und ribosomenbesetzt auf. Die für sich entwickelnde Cnidoblasten typische kreisförmige Lamellenstruktur (Abb. 36 c) findet sich regelmäßig.

4.3.2. Differenzierung der I-Zellen zu Nährzellen der Eianlage.

In die Gastralregion, in der bei asexuellen Tieren zwischen Ektoderm

Abbildung 36 a

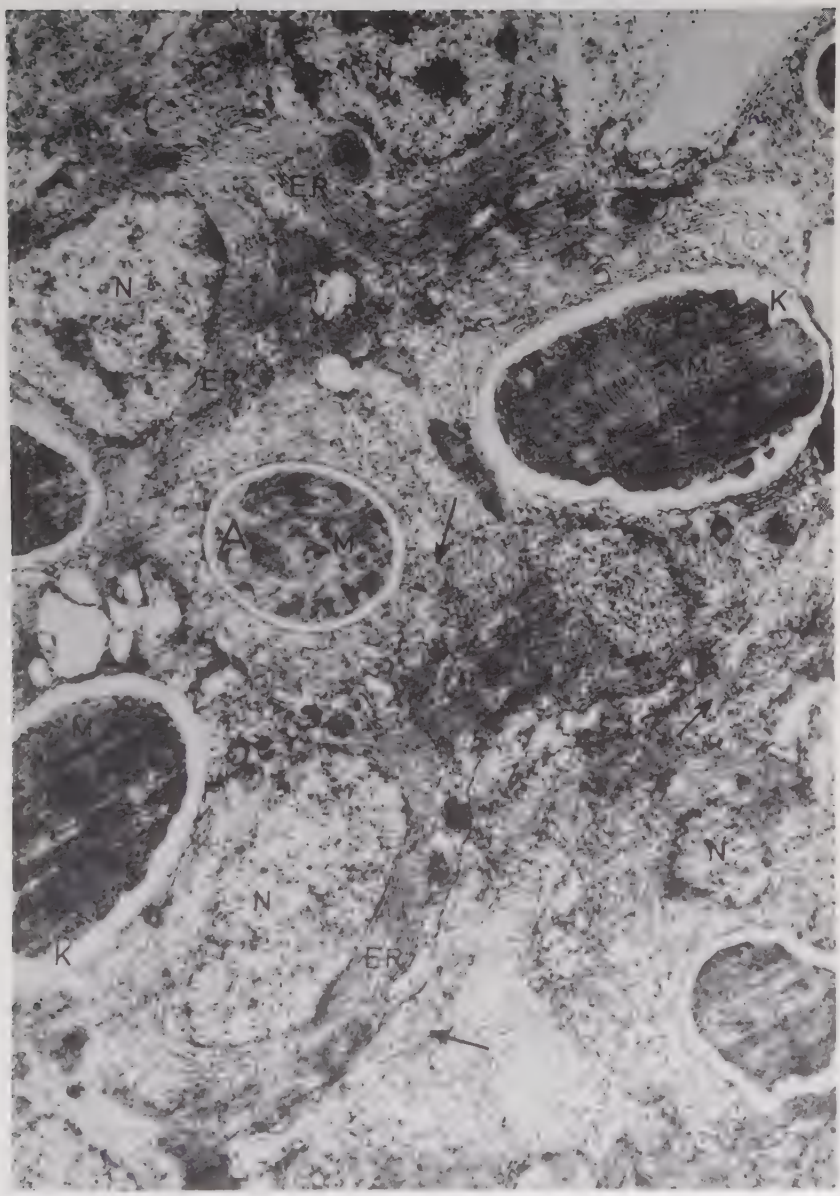


Abbildung 36 b

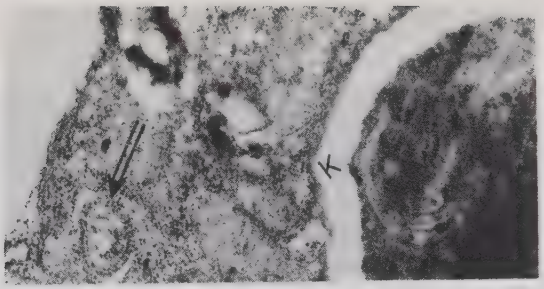


Abbildung 36 a-c: Querschnitt durch die Gastralregion einer asexuellen Hydra fusca. Der Raum zwischen Mittellamelle und Ektoderm wird weitgehend von Cnidoblasten ausgefüllt. Cniden (Cn) der verschiedenen Typen liegen in unterschiedlichen Entwicklungsstadien in ihren Bildungszellen, deren Kern (N) meist keinen deutlichen Nukleolus (No) besitzt. Zahlreiche Mitochondrien (⟶und Mi) sind vorhanden. Neben freien Ribosomen (Ri) ist rauhes endoplasmatisches Retikulum (ER) stark ausgeprägt. Auffällig ist die für Cnidoblasten typische kreisförmige, ribosomenbesetzte Lamellenstruktur (⟹in Abb. c). Vergr.: a und b: 12000:1, c: 30000:1

Folgende Abkürzungen sind in dieser und den weiteren Abbildungen verwendet worden:

A : Atriche Stereoline (= stereoline Glutinante)
Cn : Cnide
G : Golgikomplex
Gr : Dottergranula
ER : Endoplasmatisches Retikulum
H : Holotriche Streptoline (= streptoline Glutinante)
I : Interzellularraum
K : Kapsel der Cnide
L : Lipoidgranula
M : Matrix der Cnide
Mi : Mitochondrium
N : Nukleus
No : Nukleolus
NPo : Nukleusporen
NZ : Nährzelle
P : Penetrante (= Stenotele)
Ri : Ribosomen
V : Vakuole

(bzw. in ihr) und Mittellamelle vorwiegend Cnidoblasten gefunden werden, wandern als erste Anzeichen der beginnenden Gametogenese vermehrt I-Zellen unterhalb des Ektoderms ein. Dabei bleibt die Lage der Mittellamelle erhalten, während sich das Ektoderm vorwölbt. (Kleinenberg beschrieb diesen Vorgang bereits 1872.) Die I-Zellen sind plasmaarm, haben einen großen Kern - wobei der Nukleolus zunächst noch nicht stark ausgebildet ist - und wenige Mitochondrien. Am Rand wird der durch die sich sammelnden I-Zellen gebildete Zellhaufen durch Zellteilung weiter vergrößert.

Lichtoptische Darstellungen dieses Vorgangs finden sich u. a. bei Brien (1961 a, 1965).

Abb. 37 a und b zeigt eine Übersicht über ein derartiges Nest von I-Zellen in einem etwas fortgeschrittenen Stadium. (Tiere dieses Stadiums müssen 10-15 Tage in der Kälte gestanden haben.) Das Ektoderm ist zu diesem Zeitpunkt clitellumartig aufgetrieben. Die Zellen, die zum Teil noch durch große Interzellularräume getrennt und entgegen dem lichtoptischen Eindruck (Kleinenberg 1872, Steche 1911) nicht miteinander verschmolzen sind, befinden sich in physiologisch stark aktivem Zustand. Sie enthalten zahlreiche Mitochondrien (Abb. 37 c). Nebeneinander finden sich Zellen mit wenigen elektronendichten Granula (Durchmesser ca. 1/2 µm) und solche, deren Plasma von diesen bereits fast vollständig ausgefüllt ist (Abb. 37 a und b). Die Granula haben offensichtlich Dotterfunktion (siehe unten). Ihre chemische Zusammensetzung wurde nicht untersucht. Golgikomplexe sind nicht besonders häufig in diesen Zellen anzutreffen (Abb. 37 c).

Ob die Zellen in diesem Stadium zunächst Material von der Gastrodermis erhalten, wie Kepner et al. (1926) und McConnell (1933 c)

angeben, ist aufgrund der Feinstruktur nicht wahrscheinlich, allerdings auch nicht völlig auszuschließen.

Verwirrung herrscht hinsichtlich der Nomenklatur dieser Zellen. Konnte man im undifferenzierten Zustand von I-Zellen sprechen, so werden sie jetzt Nährzellen (im Gegensatz zur eigentlichen Eizelle, Brauer 1891), Oogonien (Brien et al. 1949 b) oder schon Pseudozellen genannt. Im folgenden soll der Begriff Pseudozellen aber den "Zellen" des mehr oder weniger abgerundeten Eies vorbehalten bleiben, da dort die ehemaligen I-Zellen bereits weitgehend degeneriert sind.

In diesem Stadium, in dem die sich differenzierenden I-Zellen große Mengen an Nahrungsreserven für das Ei synthetisieren, erscheint der Begriff Nährzellen am treffendsten. Die Bezeichnung Oogonien ist leicht irreführend, da diese normalerweise zu Oozyten-I differenzieren.

4.3.3. Abrundung des Eies. Bildung der Pseudozellen

Bei der weiteren Entwicklung des Eies erscheint die Eianlage zunächst durch die sich am Rand weiter sammelnden I-Zellen amöboid. Dann (ca. 20-25 Tage bei 9°C) beginnt sich das Ei abzurunden. In diesem Stadium befindet sich etwa in der Mitte des Eies bereits der definitive Eikern mit großem Nukleolus (Brauer 1891 u.a.). Sein Durchmesser beträgt etwa 60 µm (Brien 1965). Das Plasma der großen eigentlichen Eizelle ist durch höhere Dichte gegenüber den Nährzellen ausgezeichnet. Während dieser Zeit haben die Nährzellen ihre höchste synthetische Aktivität. Abb. 38 zeigt die Zellen während dieses Stadiums mit ausgeprägtem endoplasmatischem Retikulum (ER). In gleichem Maße stark ausgebildetes ER (Abb. 38 c-d) ist auch in den synthetisch sehr aktiven Drüsenzellen der Gastrodermis vorhanden (Haynes 1972).

Der Kern und besonders der vorher stark ausgebildete Nukleolus sind

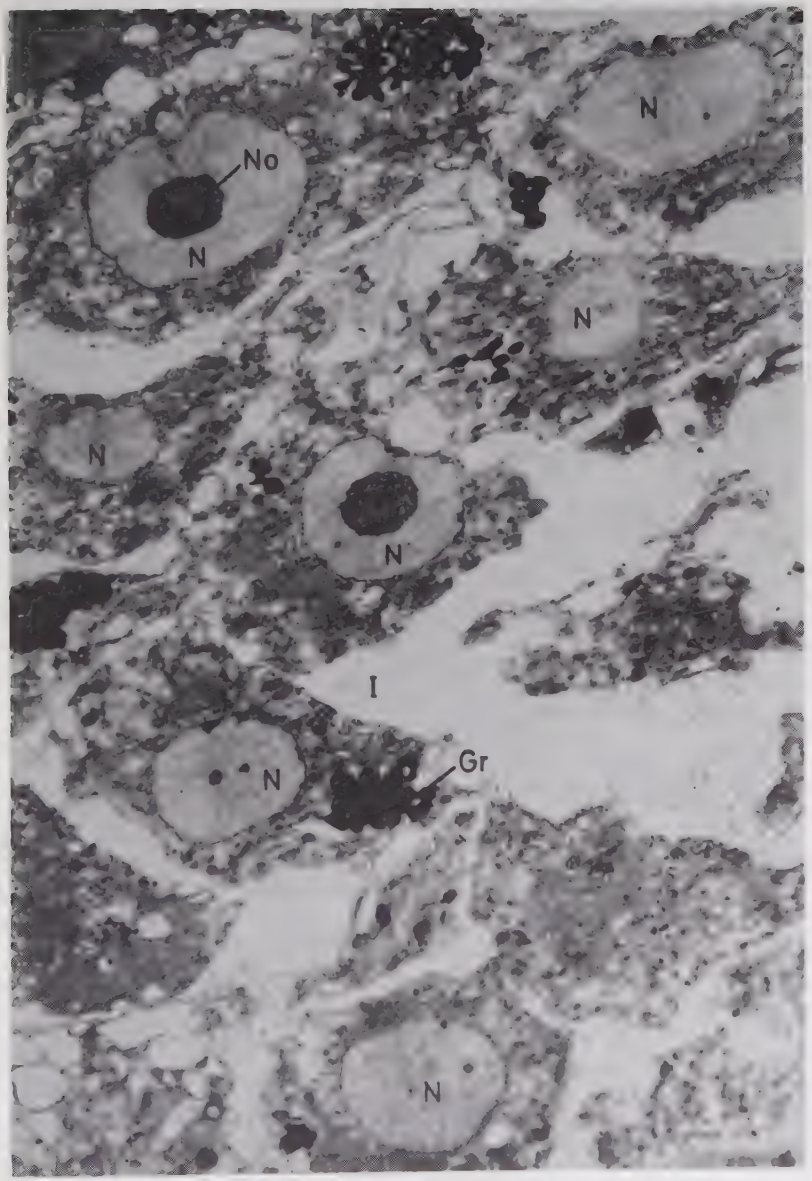


Abbildung 37 a

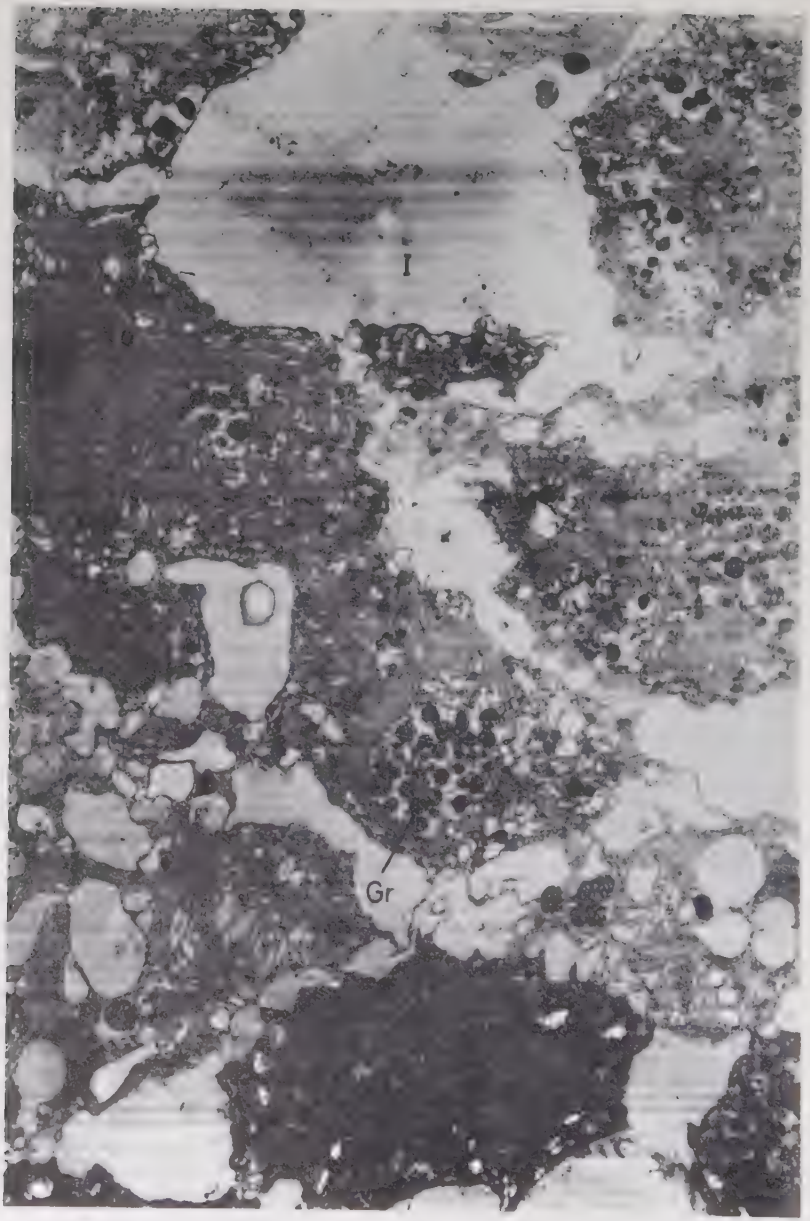


Abbildung 37 b

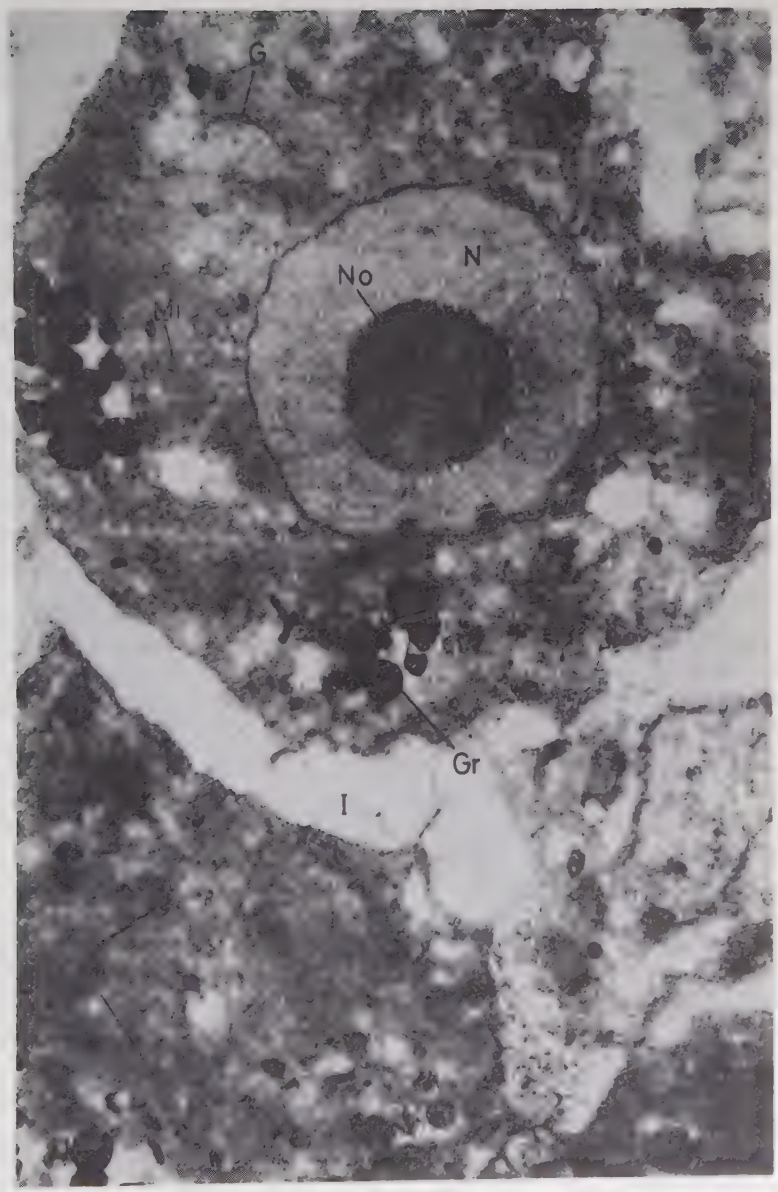


Abbildung 37 c

Abbildung 37 a-c : Nährzellen (differenzierte Y-Zellen) in einem frühen Stadium der Eianlage.

a und b : Übersicht über die physiologisch aktiven Zellen, die durch Wanderung und Teilung nesterartig zusammenliegen. In den Zellen liegen zahlreiche sehr elektronendichte Granula (Gr). Der Kern (N) enthält meist einen sehr ausgeprägten Nukleolus (No). Vergr.: 6000:1

c : Einzelne Nährzellen bei stärkerer Vergrößerung. Endoplasmatisches Retikulum (ER) ist vermehrt vorhanden. Dieses deutet ebenso wie die stellenweise sehr dicht liegenden Mitochondrien (Mi) auf die hohe Stoffwechselaktivität hin. Vergr.: 14000:1

Weitere Erläuterungen siehe im Text.

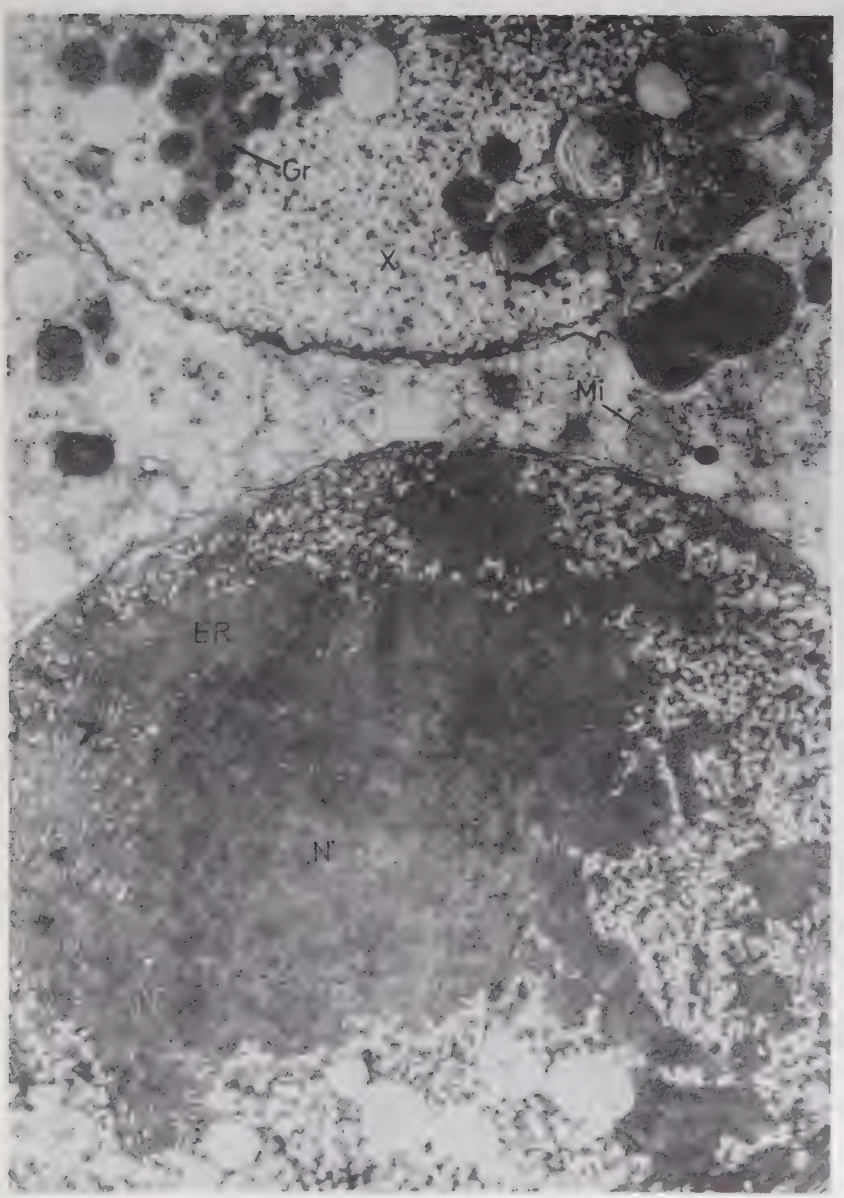


Abbildung 38 a

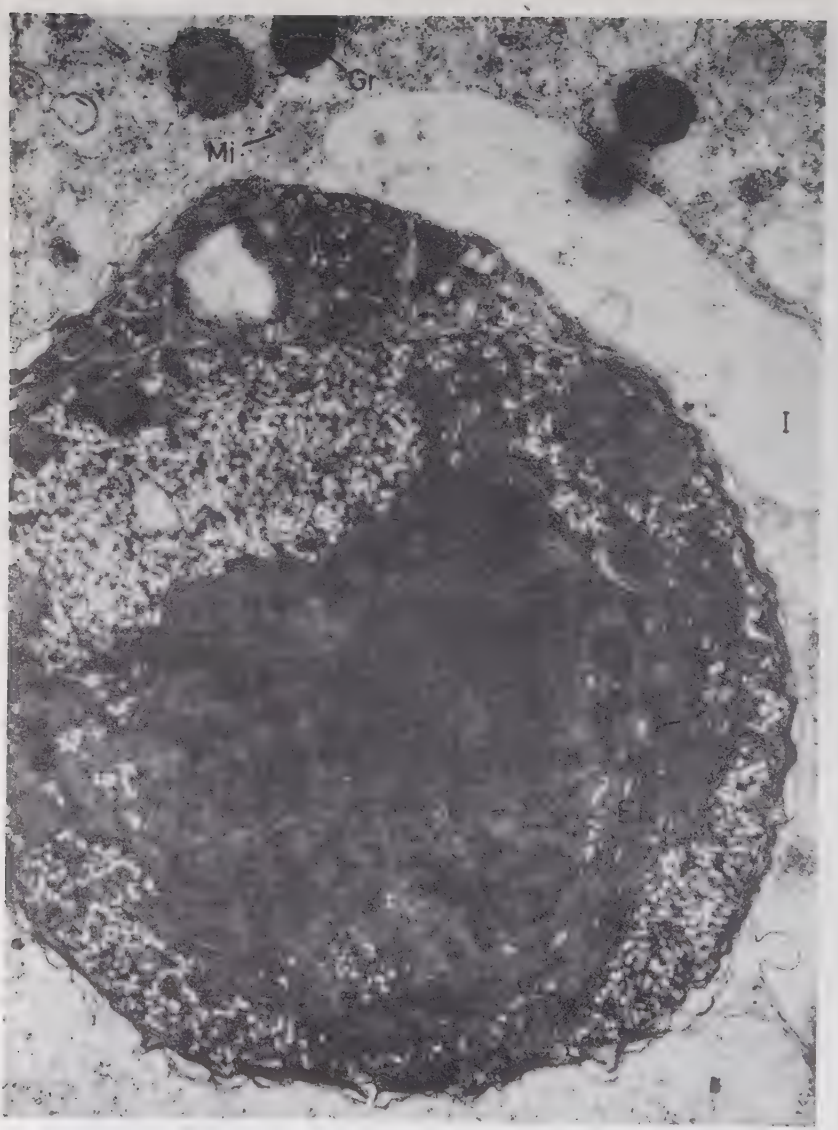


Abbildung 38 b

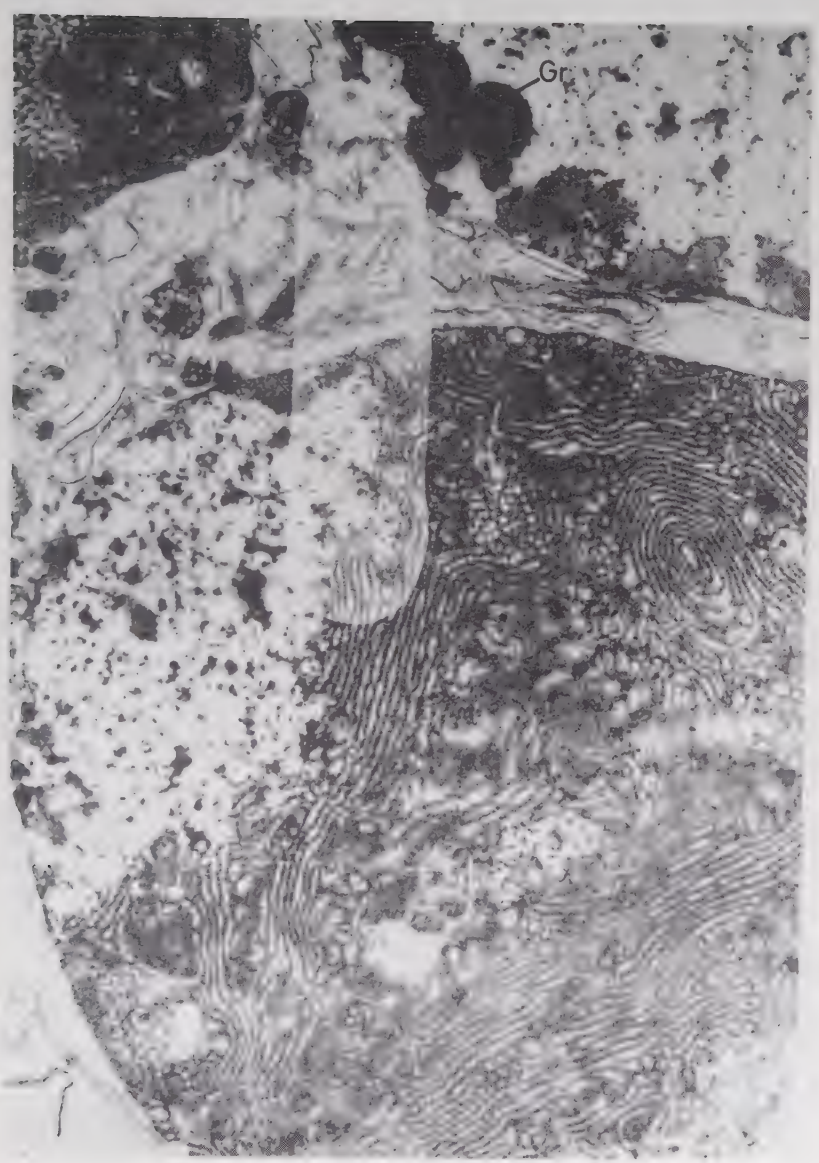


Abbildung 38 c

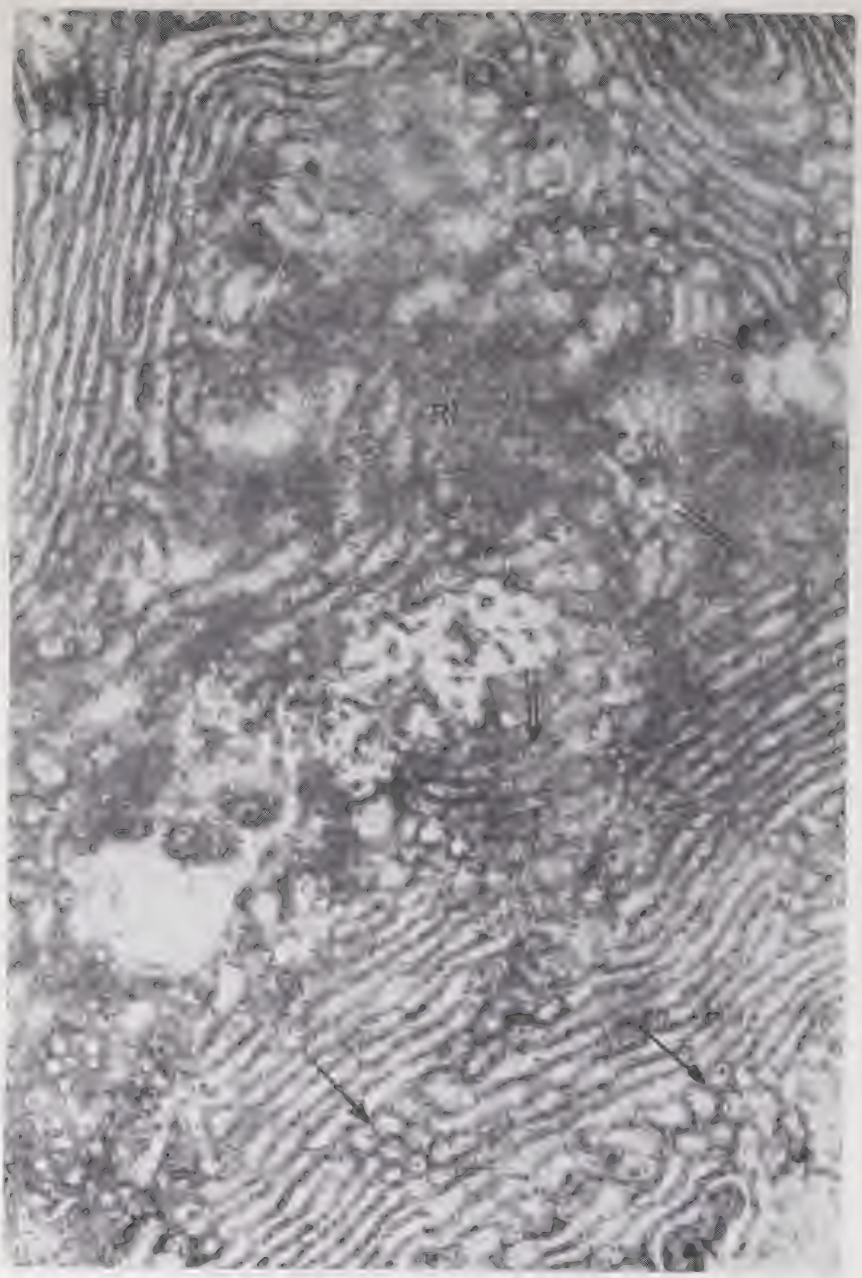


Abbildung 38 d

Erläuterungen zu Abb. 38 a-d: Nährzellen der Eianlage bei beginnender Abrundung des Eies. Der Nukleolus ist nicht mehr vorhanden, der Kern (N) größtenteils degeneriert. Das endoplasmatische Retikulum (ER) ist extensiv ausgebildet. Die Zellmembran beginnt sich vielfach aufzuwölben (Abb. a u. c).

c: Ausschnitt zweier Zellen mit Granula und fast zellfüllendem ER.

d: Stärker vergrößerter Ausschnitt aus c. Unzählige freie Ribosomen (Ri) sind zu erkennen. Teilweise ist das ER in Auflösung begriffen (⟹), an anderen Stellen (⟶) zeigt es tubuläre Strukturen. Die ER-Strukturen sind denen in aktiven Drüsenzellen ähnlich.

Vergr.: a, b u. c: 16000:1, d: 34000:1

bereits weitgehend degeneriert. Die gebildeten Granula sind zum Teil nicht nur innerhalb der Zelle, sondern liegen außerhalb in den Interzellularräumen, da sich die Zellmembranen aufzulösen beginnen. Brauer (1891) spricht in diesem Zustand von Degeneration der Nährzellen, Brien (1965) von phagozytierten und verdauten Oogonien.

Weite Räume innerhalb der Zelle sind mit granulären Strukturen ausgefüllt (x in Abb. 38 a u. b), die sich von den größeren sehr eletronendichten Granula deutlich unterscheiden. Eventuell stellen diese kleineren Granula eine zweite Form von Reservestoffen dar.

Noch während das endoplasmatische Retikulum stark ausgebildet ist, beginnt die Zellmembran der Nährzellen sich zunächst stark aufzuwölben, um dann mehr und mehr abgebaut zu werden. Dies führt zu Schlaufen- und Ringbildung der Membran (Abb. 39). Von diesem Stadium ab erscheint es sinnvoll, von "Pseudozellen" zu sprechen, da einige Charakteristika der Zelle wie Zellmembran und Kern nicht mehr vorhanden sind.

Das sich entwickelnde Ei ist dabei kein Syncytium im strengen Sinne, da lediglich die Produkte der Nähr- bzw. I-Zellen durch Abbau der Zellmembran auch die Interzellularräume ausfüllen. Da bis zum befruchtungsfähigen Ei die Konturen der Nährzellen durch Membranreste und Dottermaterial sichtbar bleiben, entstand lichtoptisch der zelluläre Eindruck des gesamten Eies.

Durch den Abbau der Zellmembran werden die ehemaligen Interzellularräume zum größten Teil mit Plasma, Granula, Mitochondrien und Membranen gefüllt. Abb. 40 zeigt diese Räume im Stadium der Abrundung der Eianlage. Im Gegensatz zu späteren Stadien sind die Granula hier noch weitgehend abgerundet, d.h. noch nicht angedaut (siehe unten).

Nach dem Abbau der Zellmembran degeneriert das endoplasmatische

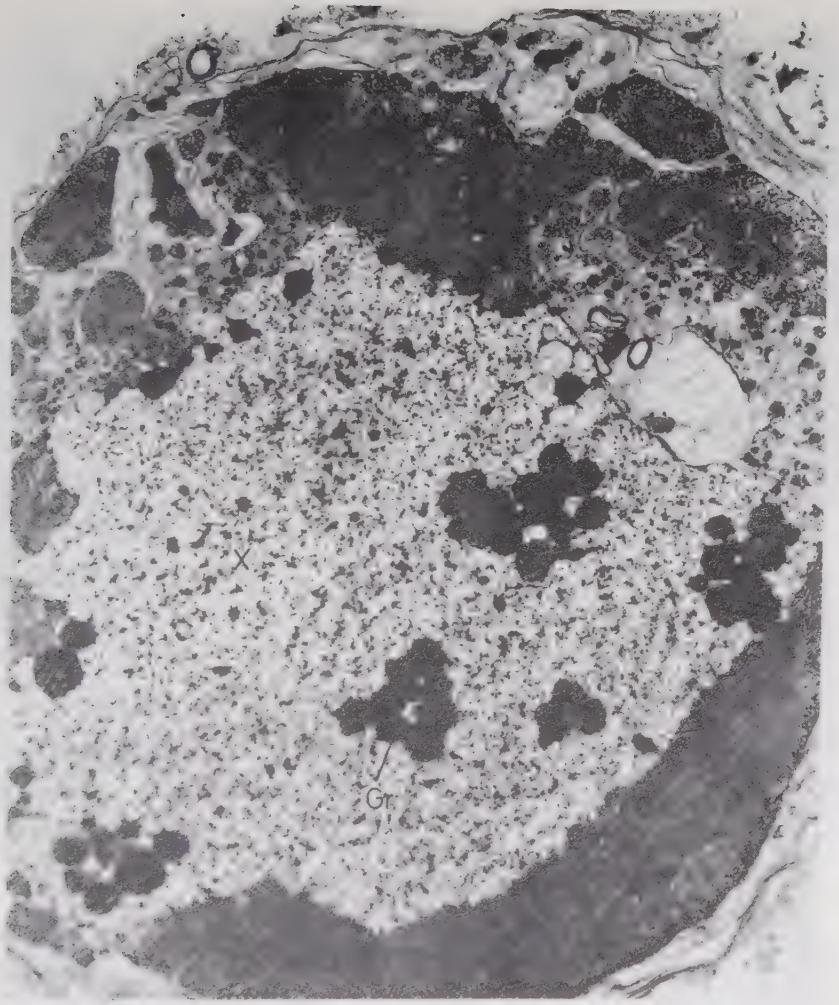


Abbildung 39: Nährzelle der Eianlage. Der Kern ist degeneriert, die Dottergranula (Gr) liegen in stark heterogenem Plasma (X). Endoplasmatisches Retikulum ist noch vorhanden (ER). Die Außenmembran ist vielfach aufgefaltet und stellenweise abgebaut. Von innen lagern sich ihr weitere Membranen an, so daß die Zelle streckenweise von mehreren Membranen umgeben wird. Vergr.: 16000:1

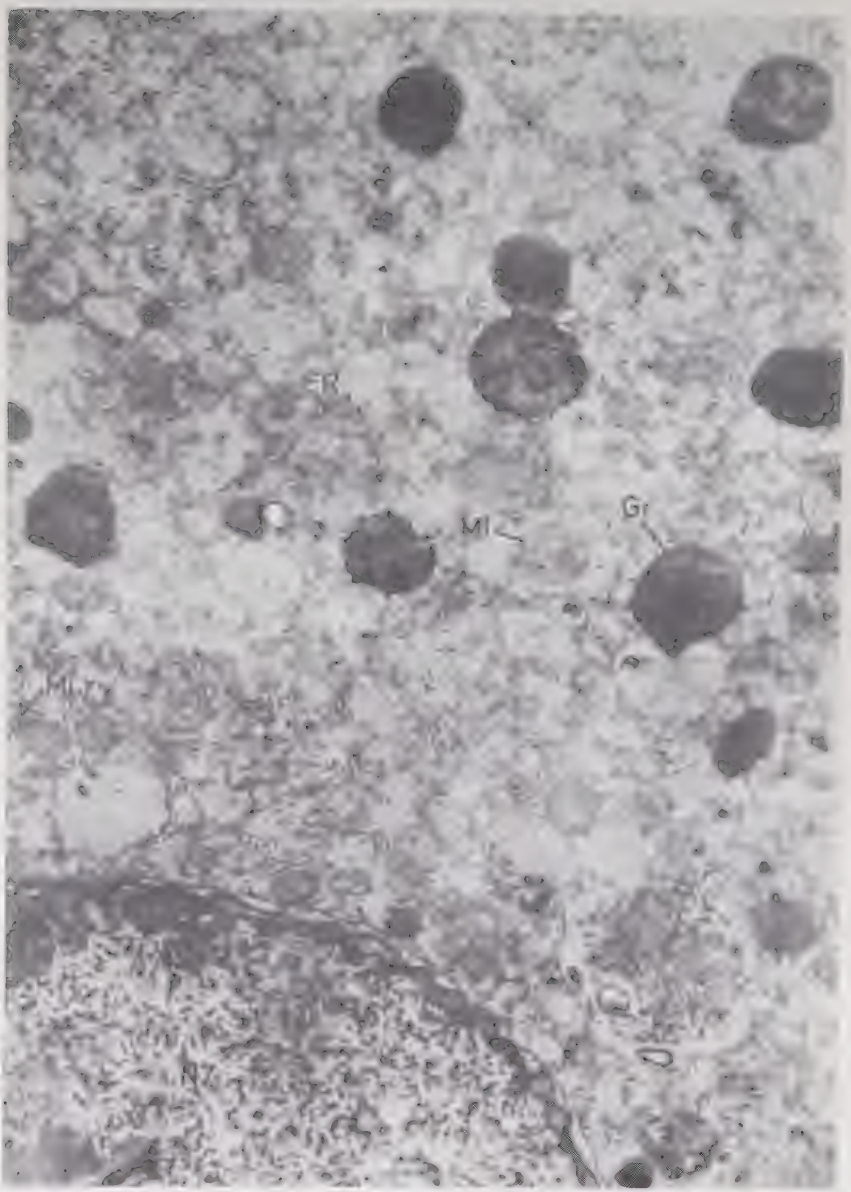


Abbildung 40 a

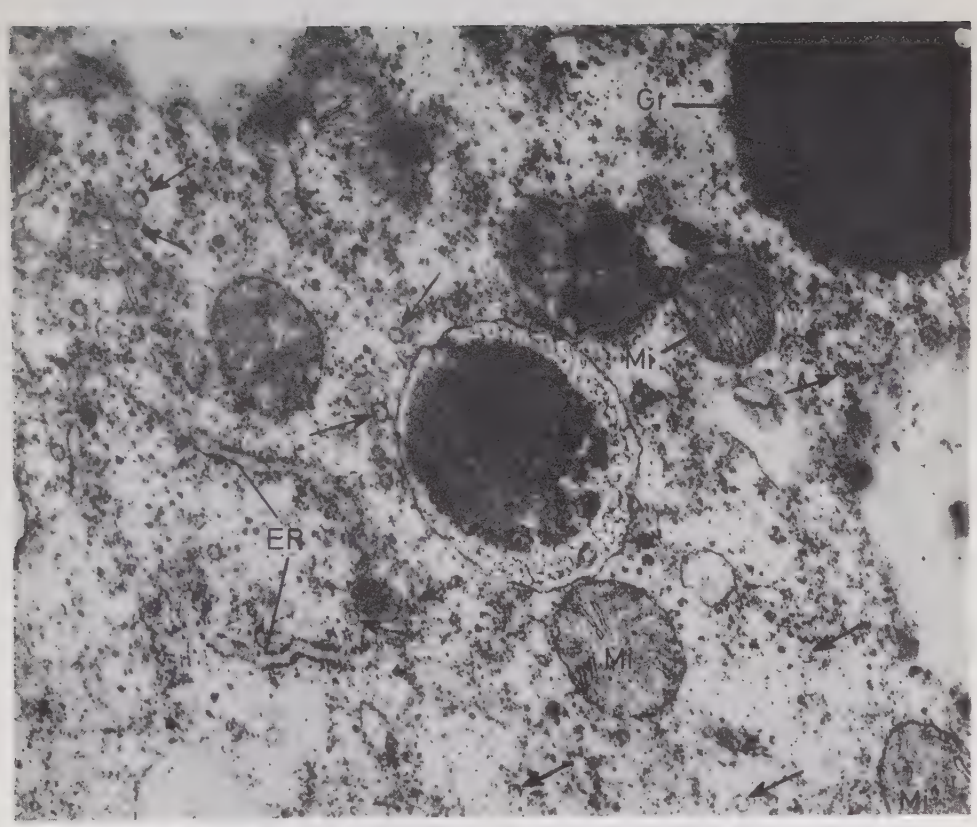


Abbildung 40 a u. b: Die durch Abbau der Membran der Nährzellen (NZ) mit Mitochondrien (Mi), Granula (Gr), degradiertem endoplasmatischem Retikulum (ER) und Plasma gefüllten Interzellularräume. In b weisen die Pfeile auf die häufig vorhandenen kreisförmigen Membranstrukturen hin.

Vergr.: a: 16000:1 b: 34000:1

Retikulum ebenfalls, so daß die Pseudozellen neben Granula und Plasma nur noch vielfach verschlungene Membranreste beinhalten (Abb. 41 a). Die Mitochondrien werden ebenfalls abgebaut, wobei sie zunehmend elektronendichteres Material ausfüllt (Abb. 41 b). Sie werden den Granula ähnlich, sind allerdings nicht so elektronendicht wie diese und durch die relativ beständige äußere Membran leicht kenntlich.

Oft finden sich Membranreste in den Interzellularräumen als auch in den Pseudozellen in von Membranen abgeschlossenen Räumen (Abb. 41 c). Ähnliche Strukturen sind in dedifferenzierenden Drüsenzellen bereits beschrieben worden (Davis 1972). Offensichtlich stellen sie Bereiche dar, in denen "überflüssige" Membranen und andere Zellinhaltsstrukturen abgebaut werden.

4.3.4. Das befruchtungsfähige Ei

Nach den oben beschriebenen Vorgängen rundet sich das Ei vollständig ab. Der Eikern ist inzwischen an die Peripherie gewandert (Brauer 1891, McConnell 1933c). Dort läuft die Meiose unter Abgabe von zwei Polkörpern und ohne sichtbaren Spindelapparat ab. Die Polkörper liegen noch kurze Zeit unter dem das ganze Ei umhüllenden Ektoderm. Dieses platzt bald darauf, die Polkörper werden frei und das Ei liegt umgeben von einer Schleimhülle befruchtungsfähig außen am Tier (nach ca. 25-30 Tagen bei 9°C).

Die Spermien dringen an einer präformierten Stelle am apikalen Pol in das Ei ein, wobei Selbstbefruchtung möglich ist (Kleinenberg 1872). Die Stelle ist ausgezeichnet durch eine kleine Grube (Mikropyle), unter der der Eikern liegt (Brien et al. 1949).

Bei vollständiger Abrundung des Eies, spätestens nach Aufreißen des Ektoderms, erscheint es sinnvoll, von einer Eizelle zu sprechen und

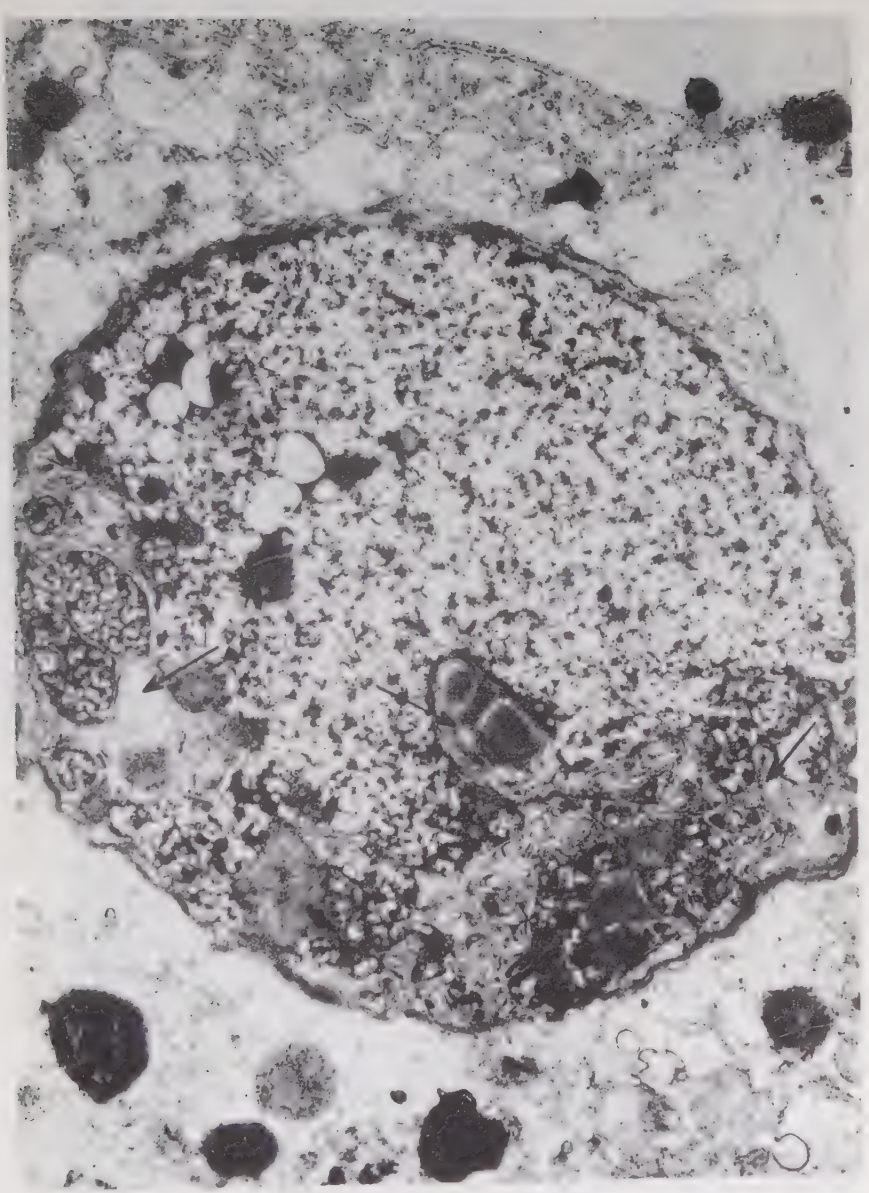


Abbildung 41 a

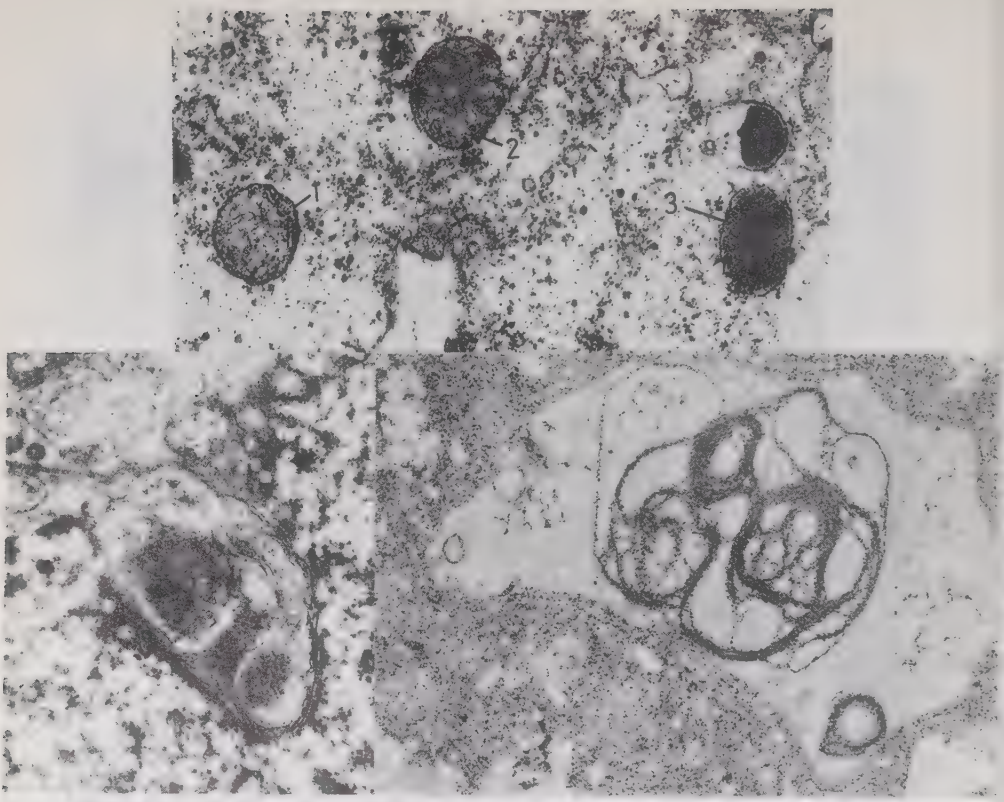


Abbildung 41 a-d: Weitergehende Degeneration der Pseudozellen.

a: Abbau des Retikulums (→). Vergr.: 16000:1

b: Abbau der Mitochondrien. Die verschiedenen Stadien fortschreitender Degradation (1, 2 u. 3). Vergr.: 34000:1

c u. d: Von Membranen abgeschlossene Räume mit degenerierten Membranen. c: Innerhalb einer Pseudozelle. Vergr.: 32000:1. d: Im Interzellularraum. Vergr.: 13000:1

Weitere Erläuterungen siehe im Text.

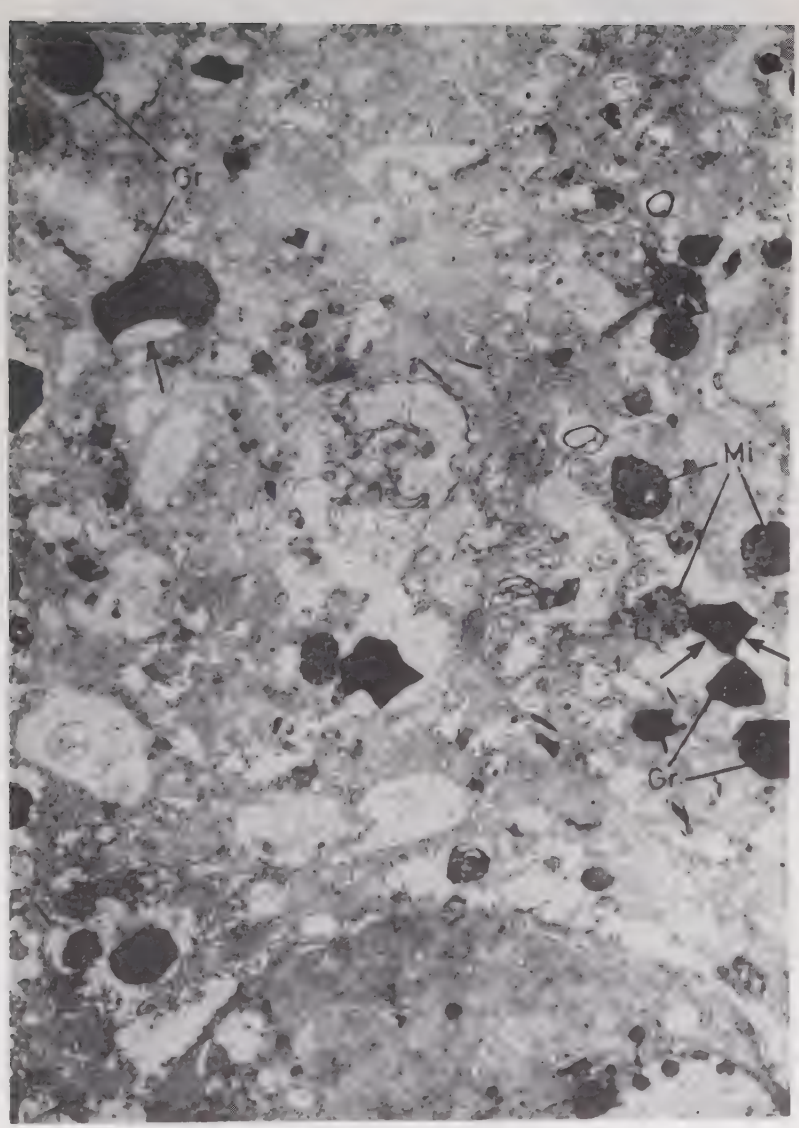


Abbildung 42 a

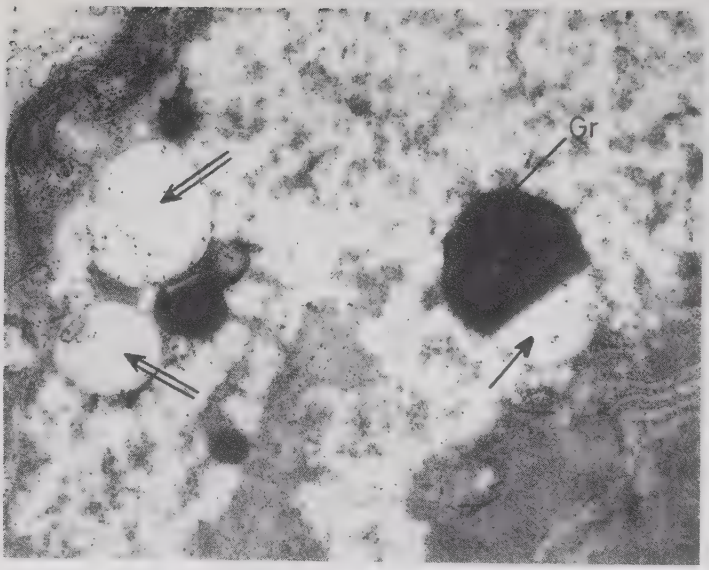


Abbildung 42 a u. b: Die zu Beginn der vollständigen Abrundung des Eies angedauten Dottergranula (Gr) im Eiplasma. Die ehemals runde Form bleibt in Umrissen erhalten (siehe Pfeile).

a: Neben Membranresten sind degenerierte Mitochondrien (Mi) zu sehen. Vergr.: 12000:1

b: Zwei vollständig verdaute Granula haben Vakuolen hinterlassen (⟹). Vergr.: 34000:1

nicht mehr von Eianlage. Das Plasma der definitiven Eizelle ist dabei hervorgegangen aus dem der Nährzellen und ihren synthetisierten Produkten.

Noch bevor das Ektoderm aufgerissen ist, werden die größeren Granula teilweise angedaut, wodurch ihre Reserve- bzw. Dotterfunktion schon morphologisch erkannt werden kann. Ihre ehemals runde Form weicht dadurch einer sehr unterschiedlichen. Abb. 42 zeigt dieses Stadium. Die

ehemalige Form der Granula bleibt dabei oft als Vakuole erhalten.

Der Aufbau des befruchtungsfähigen Eies (Abb. 43 a, b u. c) zeigt eine von Pseudozellen freie Rindenschicht mit dichterem Plasma und einen vakuolenreichen Innenraum mit Pseudozellen und Plasmasträngen sowie den sehr zahlreichen angedauten Dottergranula. Die Pseudozellen (besser: ehemaligen Pseudozellen) sind zum Teil ebenfalls vakuolisiert (Abb. 43 d, e u. f).

Die Oberfläche des Eies ist durch sehr kurze (ca. 1/3 µm) Plasmafortsätze ausgezeichnet (Abb. 43 d); wahrscheinlich sind dieses die für die Struktur des späteren Embryotheks verantwortlichen Plasmabildungen.

Nicht selten finden sich im Eiplasma mehrere Reste von Pseudozellen zusammengefaßt in einer membranbegrenzten Vakuole (Abb. 44). Eventuell deutet dies auf Teilungen der Zellen in einem sehr späten Stadium hin, wobei auch mit Amitosen zu rechnen ist, wie sie bei Tubularia beschrieben worden sind (Doflein 1897).

Wenn man die Anzahl der Pseudozellen bzw. deren Reste im Ei ungeachtet eventueller späterer Teilungen mit der Anzahl der ursprünglich zur Eianlage zusammengekommenen I-Zellen gleichsetzt, so kann man an Hand des Querschnittes abschätzen, daß für ein Ei etwa 5000 I-Zellen benötigt werden.

Da bei der untersuchten Art, Hydra fusca, die Weibchen im Durchschnitt 4-5 Eier produzieren, bedeutet dies, daß ca. 1/5 aller Zellen des Tieres (bei etwa 10^5 Zellen insgesamt) in die Oogenese eingehen. Möglicherweise hängt mit diesem hohen Prozentsatz der meist nicht aufzuhaltende Tod der Tiere nach der Oogenese zusammen, zumal (offensichtlich wegen mangelnder Cniden) das Tier gegen Ende der Sexualperiode keine

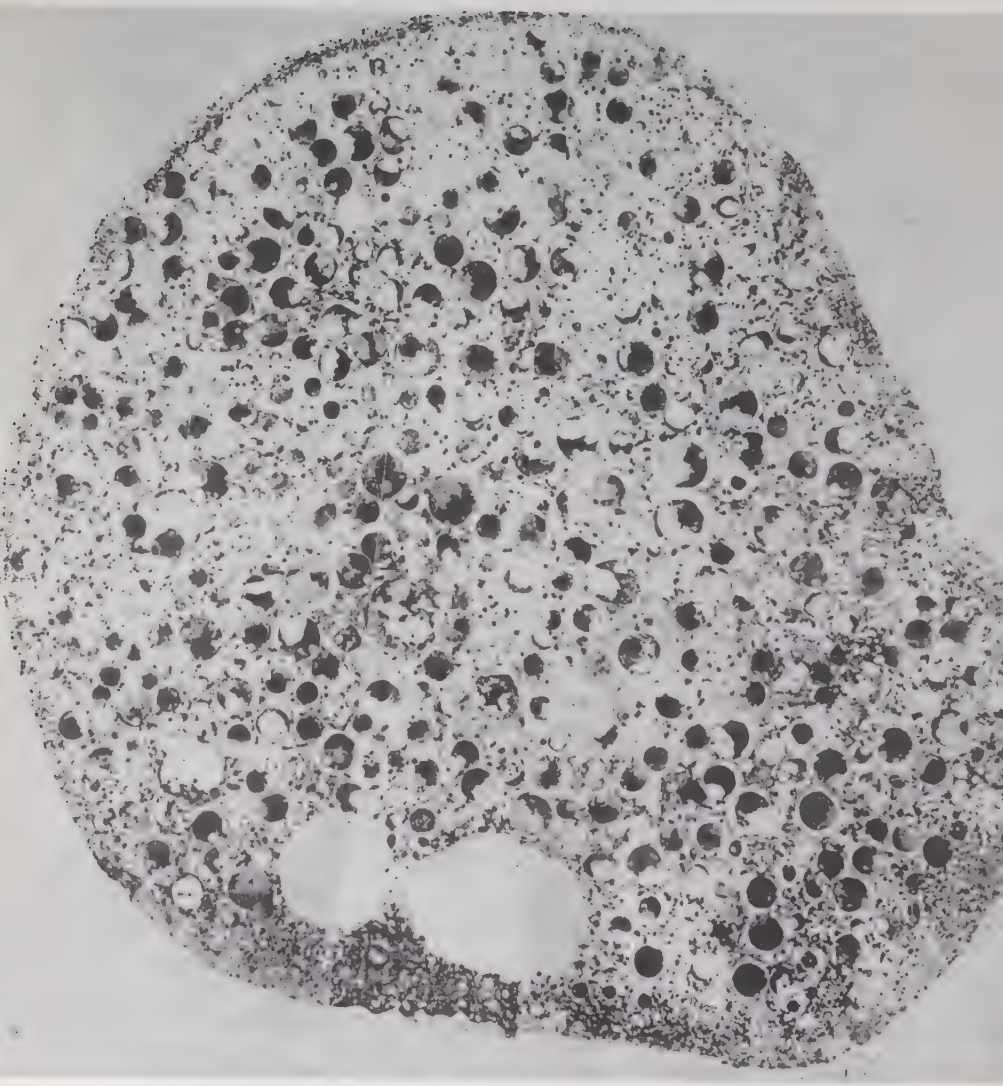


Abbildung 43 a

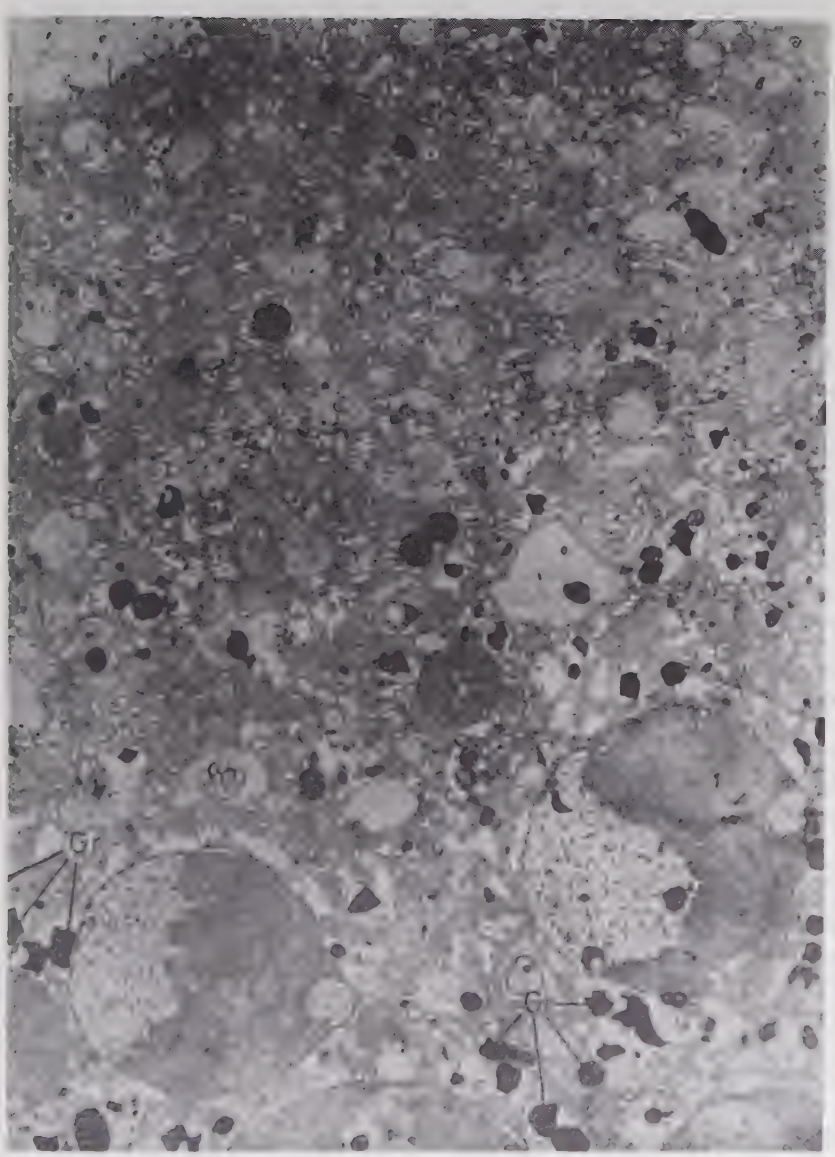


Abbildung 43 b

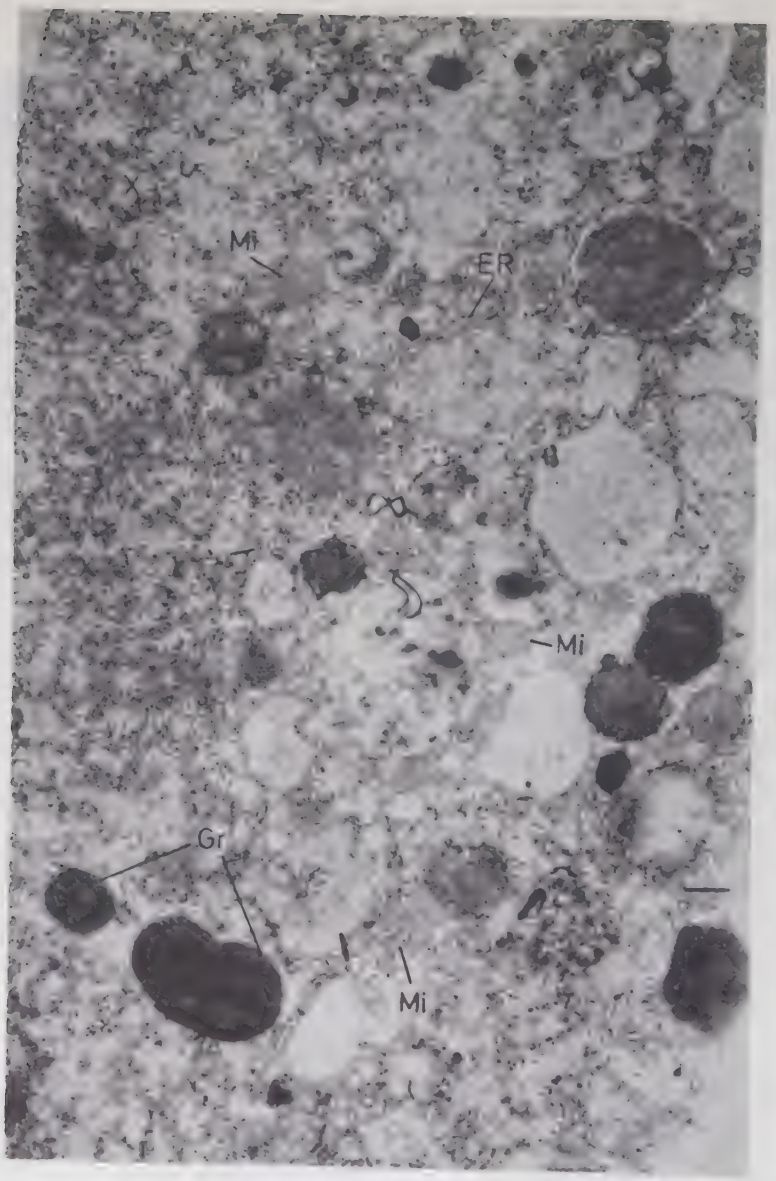


Abbildung 43 c

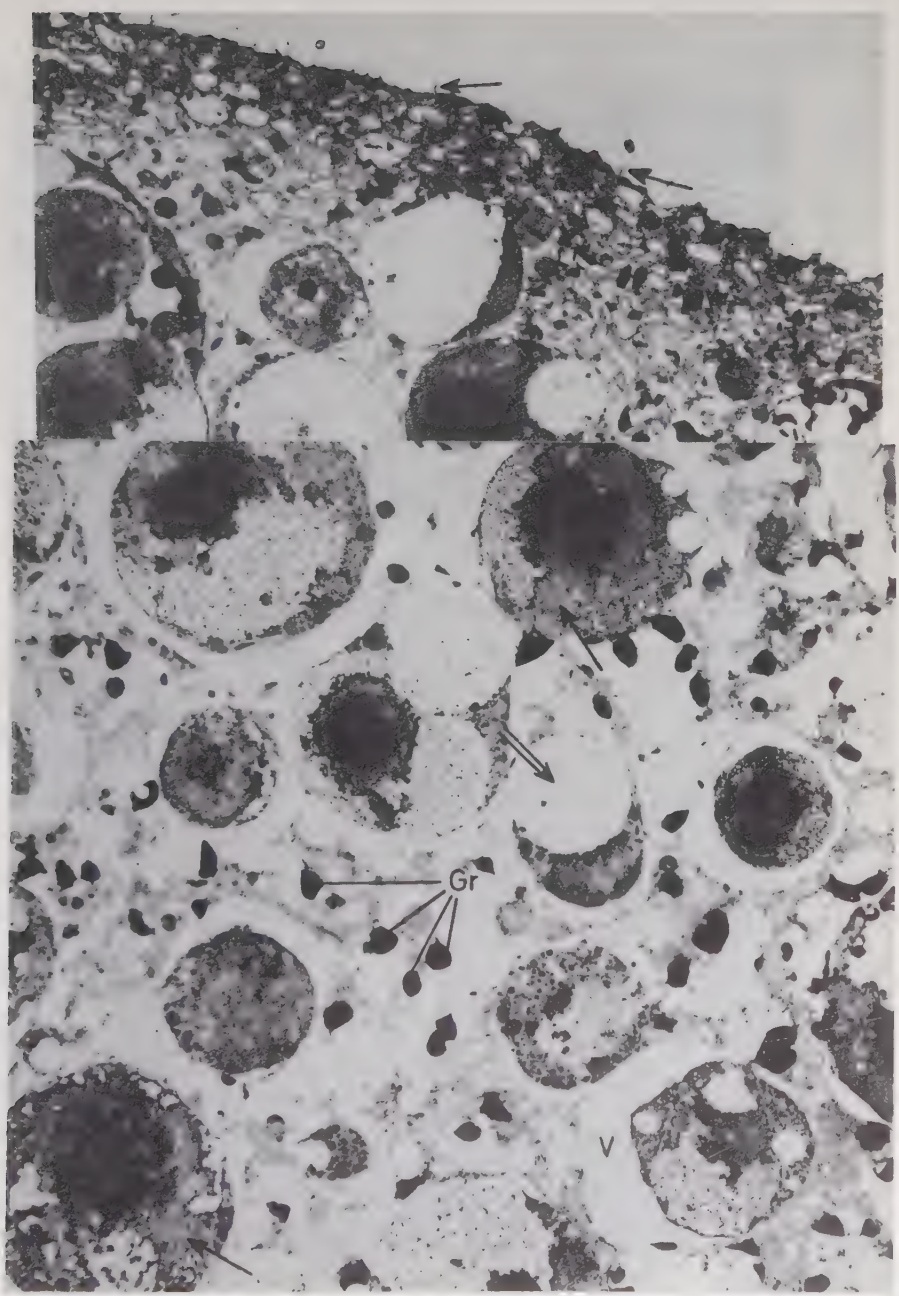


Abbildung 43 d und e

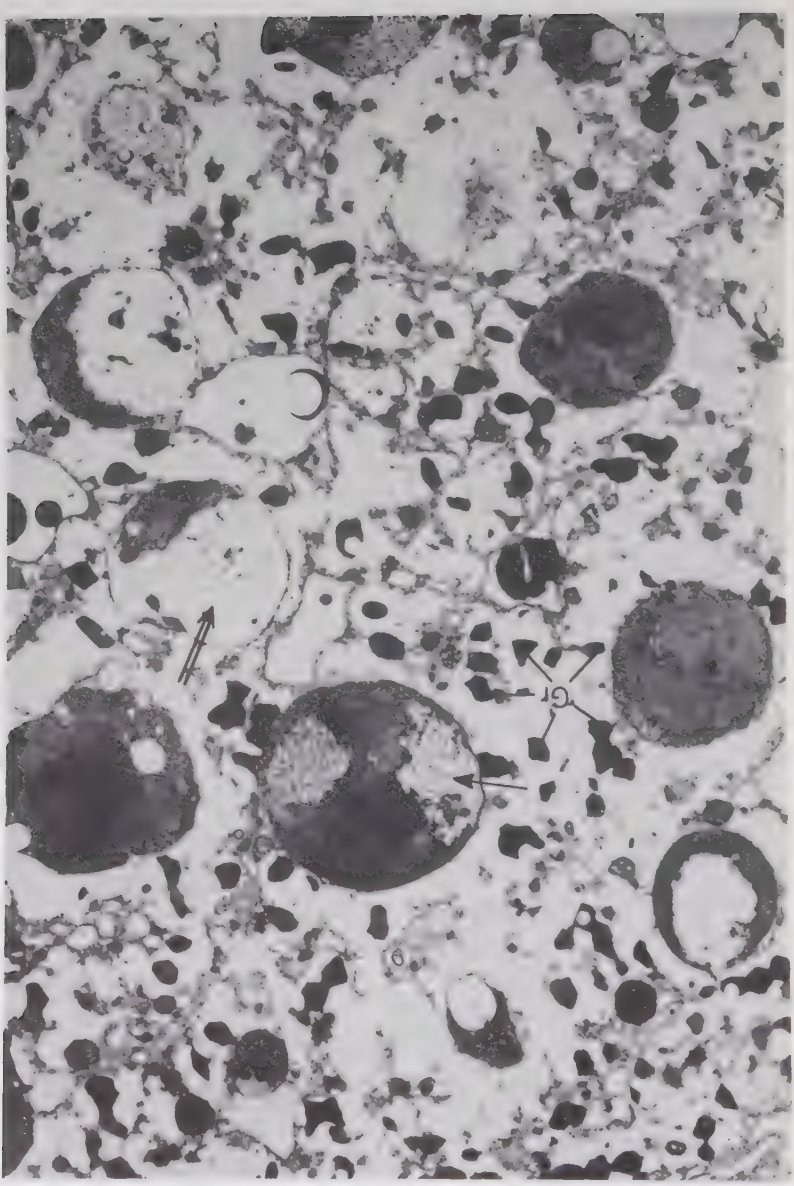


Abbildung 43 f

Erläuterungen zu Abbildung 43 a-f: Aufbau des befruchtungsfähigen, abgerundeten Eies. Das Ektoderm ist vollständig zurückgewichen.

a: Aus mehreren Einzelaufnahmen zusammengesetzte Übersicht eines Eies. Neben den Pseudozellen bzw. deren Resten sind große Vakuolen am proximalen Pol auffällig. Die Vakuolen finden sich allerdings nur in einem kleinen Prozentsatz der Eier und scheinen keine besondere Bedeutung zu haben. Vergr.: 450:1

b: Übersicht über die dichtere Rindenschicht des Eies. Diese Zone ist zwischen 5 und 20 µm stark. Vergr.: 5000:1

c: Die Rindenschicht (x) stärker vergrößert. Sie ist plasmareicher als das übrige Ei und enthält keine Reste von Pseudozellen. Nur wenige Vakuolen (V) sind vorhanden. Mitochondrien (Mi), Membranreste (ER) und einzelne Granula (Gr) liegen dicht unter der Oberfläche. Vergr.: 16000:1

d: Rindenschicht etwa zwei Tage später als in b u. c. Das Randplasma ist noch wesentlich dichter geworden und zahlreiche Granula liegen unmittelbar an der Oberfläche. Kleine Vakuolen sind häufig. Plasmafortsätze ragen über den Rand des Eies hinaus (⟶). Die Reste der Pseudozellen liegen jetzt dichter an der Oberfläche als in b und c. Vergr.: 5000:1

e u. f: Struktur im Innern des Eies. Die Pseudozellen, z.T. noch mit Kernresten und reichem ER (⟶), z.T. fast vollständig abgebaut (⟹), liegen häufig in Vakuolen (V). Zahlreiche angedaute Granula (Gr) liegen im Plasma. Vergr.: 5000:1

Weitere Erläuterungen im Text.

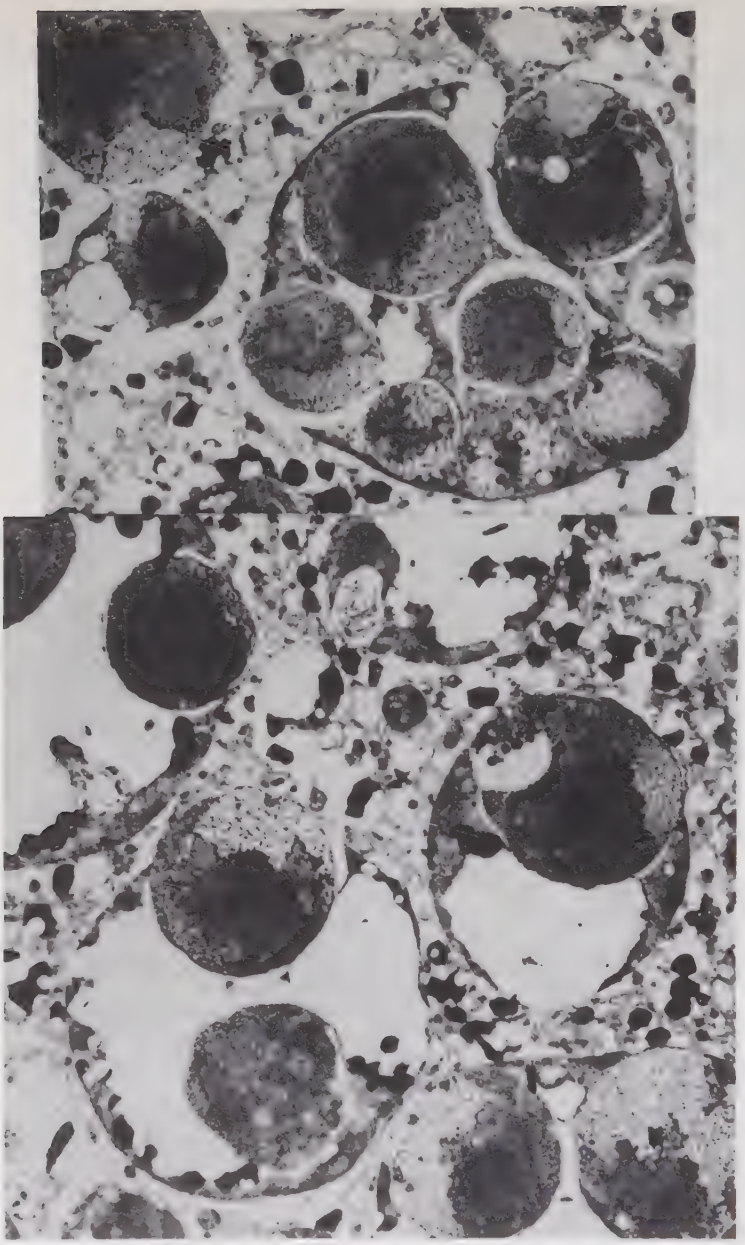


Abbildung 44 a u. b: Mehrere Pseudozellen in einem membranbegrenzten Raum.
Erläuterungen siehe im Text. Vergr.: 5000:1

Nahrung zu sich nehmen kann.

Vergleicht man die verschiedenen Differenzierungsmöglichkeiten der I-Zellen miteinander, so ist das Auffälligste bei der Oogenese, daß im Gegensatz zu allen anderen Fällen - die Zellen hier unter Abbau essentieller Teile (z.B. Nukleus) ein Maximum an Synthese leisten. Dabei wird ihre eigene Zelligkeit aufgegeben zugunsten der höheren Organisation des Eies. Sämtliches Material (sowohl synthetisierte Granula, als auch Abbauprodukte der Nährzellen) geht in dieses ein und steht zur Ernährung des Embryos zur Verfügung (siehe auch 5.).

Dieser Vorgang ist allerdings keine Phagozytose wie Brien (1965) ihn nennt, sondern eine - wenn auch nicht vollständige - Verschmelzung gleichartiger, umgebauter Nährzellen, die zum weitaus größten Teil das Eiplasma mit den Nahrungsreserven bilden.

5. DISKUSSION

Bei der Entwicklung eines höheren Organismus ist die eindimensional angeordnete Information der Gene dafür verantwortlich, daß die dreidimensionalen Strukturen der Individuen - im Regelfall in funktionaler Anordnung - erstellt werden. Dabei ist über die Realisation der chromosomalen Information zwar Grundlegendes bekannt, aber fast nichts über die Regulationssysteme, die zu dem Endresultat führen.

Die beiden wichtigsten Abschnitte in der individuellen Entwicklung sind die Oogenese und die daran anschließende zelluläre Differenzierung. Von wesentlicher Bedeutung ist die Untersuchung zunächst der Oogenese, des Riesenwachstums der Oozyten, da die weiteren

Teilungen (bei Hydra damit z.B. die Ausbildung der Polarität; Brien 1965) bereits während der Eientwicklung durch plasmatische Gradienten (z.B. Gierer et al 1972b) oder unterschiedliche Cortex-Strukturen festgelegt werden.

Um diese Fragen zu beantworten, muß ein geeignetes Modellsystem vorliegen. Einige klassische Organismen der Entwicklungsbiologie (Mäuse, Amphibien, Seeigel, Drosophila etc.) zeichnen sich durch erhebliche Nachteile hinsichtlich der Analyse der Oogenese aus. Diese wird außer durch die große Komplexität dieser Tiere durch die folgenden Bedingungen (die in wechselnder Kombination zutreffen) erschwert: 1. Die Oogenese ist nicht äußerlich sichtbar. 2. Die Oogenese ist nicht induzierbar. 3. Es sind keine Klone erhältlich. 4. Die Generationszeit ist zu lang.

Ein entwicklungsbiologisches Modellsystem muß ferner die Untersuchung mit genetischen Methoden gewährleisten, denn für die räumliche und zeitliche Auflösung so komplexer Vorgänge wie der Oogenese ist die genetische Analyse durch Mutanten sicherlich notwendig.

Die in vorliegender Arbeit als Untersuchungsobjekt dienenden Hydren bieten in dieser Hinsicht wesentliche Vorteile: 1. Die Oogenese läuft sichtbar außen am Tier ab, so daß Oogenese-Mutanten, die für die Analyse der Polarität erfolgversprechend sind, leicht auffindbar werden. 2. Speziell Hydra fusca läßt sich reproduzierbar durch niedrige Temperaturen sexuell induzieren, wobei bis zu 20% der Zellen eines Individuums zur Oogenese herangezogen

werden. 3. Klonierung ist durch vegetative Vermehrung (Knospung) gewährleistet. 4. Die Tiere besitzen nur wenige Zell- und Gewebetypen (Bode et al. 1973).

Um die Hydren als Modellsystem zu entwickeln, wurde zunächst die in vorliegender Arbeit erstmals beschriebene Massenzucht der gonochoristischen Art Hydra fusca etabliert. Im Anschluß daran konnte gezeigt werden, daß Kreuzungen innerhalb dieser Art reproduzierbar in großem Umfang möglich sind. Die Generationszeit beträgt 50 bis 60 Tage. Diese Zeit stellt allerdings einen Kompromiß im Vergleich zu anderen möglichen Systemen (z.B. dem Pilz Phycomyces, Bergmann et al. 1969; dem Nematoden Caenorhabditis elegans, Brenner 1974) dar. Dieser Nachteil wird aber experimentell durch die hohe vegetative Vermehrungsrate ausgeglichen.

Da, wie gezeigt wurde, die Analyse des Karyotyps trotz der geringen Größe der Zellen möglich ist, wird auch die zytogenetische Analyse prinzipiell möglich.

Um die genetische Untersuchung der Oogenese zu erreichen, ist die experimentelle Erzeugung von mindestens teilweise homozygoten oder haploiden Tieren anzustreben. Mit verschiedenen Methoden (z.B. Temperaturschocks oder Verletzung der Eier, Befruchtung mit inaktivierten Spermien) wurde dies z.B. bei Säugetieren, Amphibien und Seeigeln bereits erreicht (Frankhauser 1955).

Die Kontrolle der Morphologie während Oogenese und Differenzierung, bestimmt durch Gene und Umwelt, muß durch ein hohes Auflösungsvermögen gekennzeichnet sein. Neben der Molekularbiologie, die Sequenz-

daten der interessierenden Moleküle liefern kann, und anderen Methoden ist zur Erfassung der zellulären und subzellulären Morphologie die elektronenoptische Analyse von Wildtyp-Hydren und Mutanten erforderlich. Ein erster Schritt ist die beschriebene Untersuchung der Oogenese.

Da das Wachstum der Oozyte ohne endomitotische Polyploidisierung verlaufen muß, wird bei Hydra zur Ernährung des Embryos das weitverbreitete Prinzip der Bildung von Nährzellen verwirklicht. Die Ausdifferenzierung dieser sogenannten"Pseudozellen" in der Eianlage wird erstmals elektronenoptisch verfolgt (siehe auch Brien et al. 1955). Ob - ähnlich wie bei den Insekten, wo der größte Teil der Dotterproteine aus dem Blut stammt - bei Hydra zusätzlich Material aus Ekto- oder Entoderm in das Ei aufgenommen wird, wurde nicht untersucht.

Zur Klärung der Polarität wie auch der Frage, welche der I-Zellen der Eianlage zur Keimzelle wird, erscheinen auf dieser Ebene der Untersuchungen Serienschnitte notwendig. Damit wäre z.B. zu klären, ob es frühe plasmatische Verbindungen zwischen den I-Zellen gibt, ob die Lage der Keimzelle statistisch ist oder ob ihre Position bzw. ihr Nahrungsangebot ausschlaggebend ist. Damit verknüpft ist die Frage nach möglichen Stammzellen (siehe auch Burnett 1966).

Markierung mit RNA-Tracern könnte zusätzlich Aufschluß über RNA-Synthese und -Transport geben. Vorversuche zur RNA-Markierung mit radioaktiven L-Zellen oder Papierattrappen, die mit Glutathion und Milchsäure getränkt wurden, sind hier erfolgversprechend (Adil-Awni, Diplomarbeit). Für biochemische Untersuchungen ist diese Markierungs-

methode generell verwendbar. Die (ähnlich Zellkulturzellen) am ganzen Tier ohne feste äußere Hülle vorliegenden Zellen ermöglichen überdies leichtes Aufschließen für derartige Analysen.

Zur Klärung mancher Fragen erscheinen zusätzlich Zellkulturen sinnvoll. Wie gezeigt wurde, können Hydren bereits weitgehend steril gezüchtet werden. Sterilisation ihrer befruchteten Eier (mit der sehr widerstandsfähigen Embryothek) in Glutaraldehyd könnte ein Ausgangspunkt für diese Zellkultur sein.

Unter anderem in Abhängigkeit davon, ob diese langfristig möglich wird und ob ausreichend Mutanten selektioniert werden können, ist dieses System geeignet, Probleme der Oogenese zu analysieren.

Da bei Hydren eventuell keine Keimbahn vorhanden ist, muß die Frage nach Stammzellenentwicklung aber möglicherweise an einem anderen System untersucht werden. Ebenso ist das sehr primitive Nervennetz (Burnett 1972) der Hydren wahrscheinlich nicht geeignet, alle mit der Entwicklung von Nervensystemen verbundenen Fragen zu beantworten.

6. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wird eine Methode beschrieben wie Hydren, speziell die schwierig zu haltenden Weibchen der Art fusca, weitgehend steril in Massenkulturen kontinuierlich gezüchtet werden können.

2. Es werden die Morphologie der Hydren, ihre Nesselzellenstruktur und die Oberflächenbeschaffenheit der Embryotheken untersucht und ihre systematische Relevanz, insbesondere bei den zwittrigen Arten der circumcincta-Gruppe, diskutiert.

3. Zwei neue Arten (Hydra polygonata nov. spec. und Hydra autumnalis nov. spec.) werden beschrieben.

4. Das auch für die Systematik bedeutsame Sexualverhalten verschiedener Hydra-Arten wird dargestellt.

5. Die Chromosomenzahlen der einheimischen Arten fusca, attenuata, vulgaris, viridis, circumcincta, polygonata nov. spec. und autumnalis nov. spec. sowie der amerikanischen Art littoralis werden bestimmt. Bei allen finden sich 30 Chromosomen. Bei fusca werden von Männchen und Weibchen Karyogramme angefertigt und vier Chromosomenklassen aufgestellt.

6. Eingehend untersucht werden die Kernverhältnisse bei der Meiose während der Spermiogenese bei fusca und littoralis sowie während der Oogenese bei fusca. Diese Arten sind diploid (mit n = 15).

Die Meiose läuft in allen Fällen karyologisch ohne Besonderheiten ab; ein Sexualchromosom ist morphologisch und dem Verhalten nach nicht zu identifizieren.

7. Der synchrone Ablauf der Mitosen in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des Fütterns (ca. 9 Std. nach dem Füttern ist ein Maximum an Mitosen) wird beschrieben.

8. Die zellulären Verhältnisse während der Oogenese werden elektronenmikroskopisch verfolgt, insbesondere die Entwicklung der interstitiellen Zellen des Ovars zu den "Pseudozellen" des Eies.

Die Meiose läuft in allen Fällen karyologisch ohne Besonderheiten ab; ein Sexualchromosom ist morphologisch und dem Verhalten nach nicht zu identifizieren.

7. Der synchrone Ablauf der Mitosen in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des Fütterns (ca. 9 Std. nach dem Füttern ist ein Maximum an Mitosen) wird beschrieben.

8. Die zellulären Verhältnisse während der Oogenese werden elektronenmikroskopisch verfolgt, insbesondere die Entwicklung der interstitiellen Zellen des Ovars zu den "Pseudozellen" des Eies.

Brien, P. 1965
L'Embryogenese et la senescence de l'Hydre d'eau douce (Hydra fusca (oligactis) Pallas).
Mem. Acad. Roy. Belg. Sci. Coll. 36,1

Brien, P. et Reniers-Decoen, M. 1949
La croissance, la blastogênèse, l'ovogénèse chez Hydra fusca (Pallas).
Bull. Biol. France-Belg. 83, 293

Brien, P. et Reniers-Decoen, M. 1955
La significance des cellules interstitielles des hydras d'eau douce et la problème de la réserve embryonnaire.
Bull. Biol. France-Belg. 89, 259

Burnett, A.L. 1959
Histophysiology of growth in Hydra.
J. Exp. Zool. 140, 281

Burnett, A.L. 1961
The growth process in Hydra.
J. Exp. Zool. 146, 21

Burnett, A.L. 1966
A model of growth and cell differentiation.
Amer. Natur. 100, 165

Brunett, A.L. 1968
The acquisition, maintenance and lability of the differentiated state in Hydra.
In: Ursprung, H. (ed.): Results and Problems in Cell Differentiation, Vol 1.
Berlin, New York, Heidelberg

Burnett, A.L. (ed.) 1972
Biology of Hydra.
New York and London

Burnett, A.L. and Diehl, N. 1964
The nervous system of Hydra.
III. The initiation of sexuality with special reference to the nervous system.
J. Exp. Zool. 157, 237

Burnett, A.L. and Garofalo, M. 1960
Growth pattern in the green Hydra Chlorohydra viridissima.
Science, 131, 160

Burnett, A.L. and Hausmann, R.E. 1969
The mesoglea of Hydra.
II. Possible role in morphogenesis.
J. Exp. Zool. 171, 15

Campbell, R.D. 1967a
Tissue dynamics of steady state growth in Hydra littoralis.
I. Patterns of cell division.
Develop. Biol. 15, 487

Campbell, R.D. 1967b
Tissue dynamics of steady state growth in Hydra littoralis.
II. Patterns of tissue movement.
J. Morph. 121, 19

Campbell, R.D. 1967c
Growth pattern of Hydra: Distribution of mitotic cells in H. pseudoligactis.
Trans. Amer. Micros. Soc. 86, 169

Clarkson, S.G. and Wolpert, L. 1967
Bud morphogenesis in Hydra.
Nature 214, 780

Clarkson, S.G. 1969a
Nucleic acid and protein synthesis and pattern regulation in hydra. I. Regional patterns of synthesis and changes in synthesis during hypostome formation.
J. Embryol. exp. Morph. 21, 33

Clarkson, S.G. 1969b
Nucleic acid and protein synthesis and pattern regulation in hydra. II. Effect of inhibition of nucleic acid and protein synthesis in hypostome formation.
J. Embryol. exp. Morph. 21, 55

Corff, S.C. 1969
The role of mitosis in growth and morphogenesis.
Ph.D. Dissertation, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio

Corff, S.C. 1971
Mitosis and Differentiation in Hydra Morphogenesis.
In: Developmental aspects of the cell cycle.
New York

Corff, S.C. and Burnett, A.L. 1969
Morphogenesis in hydra. I. Peduncle and basal disc formation at the distal end of regenerating hydra after exposure to colchicin.
J. Embryol. exp. Morph. 21, 417

Crick, F. 1970
Diffusion in Embryogenesis.
Nature 21, 420

Davis, L.E. 1972
Ultrastructural Changes during Dedifferentiation and Redifferentiation in the regenerating, isolated Gastrodermis.
In: Burnett, A.L. (ed.): Biology of Hydra.
New York and London

Davis, L.E.; Burnett, A.L.; Haynes, J.F. and Mumaw, V.R. 1966
A histological and ultrastructural study of Dedifferentiation and Redifferentiation of digestive and gland Cells in Hydra viridis.
Develop. Biol. 14, 307

Diehl, F.A. and Burnett, A.L. 1966
The role of interstitial cells in the maintenance of Hydra.
IV. Migration of interstitial cells in homografts and heterografts.
J. Exp. Zool. 163, 125

Doflein, F. 1897
Die Eibildung bei Tubularia.
Zeitschr. f. wiss. Zool. 62, 61

Downing, E.R. 1905
The spermatogenesis of Hydra.
Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. 21, 379

Downing, E.R. 1908
The ovogenesis of Hydra.
Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. 28, 295

Eberle, P. 1966
Die Chromosomenstruktur des Menschen in Mitosis und Meiosis.
Stuttgart

Ehrenberg, C.G. 1836
Über Hydra vulgaris.
Abhandl. Akad. Wiss. Berlin, 133

Ewer, R.F. 1948
A review of the Hydridae and two new species of Hydra from Natal.
Proc. Zool. Soz. London 118,226

Frankhauser, G. 1955
The Role of Nucleus and Cytoplasm.
In: Willier, Weiss & Hamburger (eds.):Analysis of Development.
Philadelphia

Gauthier, G.F. 1963
Cytological studies on the Gastrodermis of Hydra.
J. Exp. Zool. 152, 13

Gierer, A.; Berking, S.; Bode, H; David, C.N.; Flick, K.; Hausmann, G.; Schaller, H. and Trenkner, E. 1972a
Regeneration of Hydra from Reaggregated Cells.
Nature, New Biol. 239, 98

Gierer, A. and Meinhardt, H. 1972b
A Theory of Biological Pattern Formation.
Kypernetik 12, 30

Goetsch, W. 1922
Hermaphroditismus und Gonochorismus bei Hydrozoen.
Zool. Anz. 54,6

Goetsch, W. 1927
Die Geschlechtsverhältnisse der Süßwasser-Hydrozoen und ihre experimentelle Beeinflussung.
Wilh. Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 111, 173

Goetsch, W. 1929
Das Regenerationsmaterial und seine experimentelle Beeinflussung.
Versuch zur einheitlichen Beurteilung der regenerativen Erscheinung.
Wilh. Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 117, 211

Gross, J. 1925
Versuche und Beobachtungen über die Biologie der Hydroiden.
Biol. Centralblatt 45, 321

Gross, J. 1925a
Über die die Gonadenbildung bei Süßwasserpolypen auslösenden Bedingungen.
Naturwiss. 26, 73

Hausmann, R.E. and Burnett, A.L. 1969
The mesoglea of Hydra.
I. Physical and histochemical properties.
J. Exp. Zool. 171, 7

Haynes, J.F. 1972
Feeding and Digestion.
In: Burnett, A.L. (ed.): Biology of Hydra.
New York and London

Haynes, J.F. and Burnett, A.L. 1963
Dedifferentiation and redifferentiation of cells in Hydra viridis.
Science 142, 1481

Haynes, J.F., Burnett, A.L. and Davis, L.E. 1968
Histological and ultrastructural study of the muscular and nervous system in Hydra.
I. The muscular system and the mesoglea.
J. Exp. Zool. 167, 283

Kepner, W.A. and Looper, J.B. 1926
The Nutrition of the Ovum of Hydra viridis.
Biol. Bull. 50, 525

Kinne, O. 1964
Hydrozoa. In: Brohmer (ed.): Fauna von Deutschland.
Heidelberg

Kleinenberg, N. 1872
Hydra. Eine anatomisch-entwicklungsgeschichtliche Untersuchung.
Leipzig

Korotneff, A. 1883
Zur Kenntnis der Embryologie der Hydra.
Zeitschr. f. wiss. Zool. 38, 314

Kuwabara, M. 1936
Beiträge zur Kenntnis der Sexulität von Süßwasserhydroiden.
I. Die sexuellen Rassen von Hydra attenuata.
J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. 5, 95

Lenhoff, H.M. 1959
Migration of C^{14} labelled Cnidoblasts.
Exp. Cell. Res. 17, 570

Lenhoff, H.M. and Loomis, W.F. (eds.) 1961
The Biology of Hydra and some other Coelenterates.
University of Miami Press

Lentz, T.L. 1965a
Hydra: Induction of supernumerary heads by isolated neurosecretory granules.
Science 150, 633

Lentz, T.L. 1965b
Fine structural changes in the nervous system of regenerating Hydra.
J. Exp. Zool. 159, 181

Lentz, T.L. 1966
The Cell Biology of Hydra.
Amsterdam

Lesh, G.E. and Burnett, A.L. 1964
Some biological and biochemical properties of the polarizing factor in Hydra.
Nature 204, 492

Lesh, G.E. and Burnett, A.L. 1966
An analysis of the chemical control of polarized form in Hydra.
J. Exp. Zool. 163, 55

Li, Y.F., Baker, F.D. and Andrew W. 1963
A method for tissue culture of Hydra cells.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 113, 259

Loomis, W.F. 1953
The cultivation of Hydra under controlled conditions.
Science 117, 565

Loomis, W.F. 1954
Reversible induction of sexual differentiation in Hydra.
Science 120, 145

Loomis, W.F. 1957
Sexual differentiation in Hydra.
Science 126, 735

Loomis, W.F. 1964
Microenviromental control of sexual differentiation in Hydra.
J. Exp. Zool. 156, 289

Loomis, W.F. and Lenhoff, H.M. 1956
Growth and sexual Differentiation of Hydra in mass culture.
J. Exp. Zool. 132, 555

Lowell, R.D. and Burnett, A.L. 1969
Regeneration of complete hydra from isolated epidermal explants.
Biol. Bull. 137, 312

Luft, J.H. 1961
Improvements in epoxy resin embedding methods.
J. biophys. biochem. Cytol. 9, 409

McConnell, C.H. 1932
Zellteilungen bei Hydra.
Zeitschr. mikr. Anat. Forsch. 28

McConnell, C.H. 1933a
Mitosis in Hydra. (Epithelia-muscular Cells).
Biol. Bull. 64, 86

McConnell, C.H. 1933b
Mitosis in Hydra. (Secretory Cells).
Biol. Bull. 64, 96

McConnell, C.H. 1933c
The Growth of the nucleus in the developing egg of Chlorohydra viridissimi.
Biol. Bull. 64, 103

McConnell, C.H. 1936
Mitosis in Hydra (Interstitial Cells).
Wilh. Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 135, 202

Moorhead, P.S., Nowelli, N.C. and Mellmann, W.J. 1960
Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood.
Exp. Cell Res. 20, 613

Muscatine, L. and Lenhoff, H.M. 1965
Symbiosis of Hydra and Algae.
I. Effects of some enviromental cations on growth of symbiotic and aposymbiotic Hydra.
Biol. Bull. 128, 415

Newman, A.S. 1973
Reversible Abolition of Normal Morphology in Hydra.
Nature, New Biology 244, 126

Niiyama, H. 1944
A study on Chromosomes in Hydra.
Cytologia (Tokyo) 13, 204

Nussbaum, M. 1907
Zur Knospung und Hodenbildung bei Hydra.
Biol. Centralbl. 27, 651

Ostertag, W. 1966
Chemische Mutagenese an menschlichen Zellen in Kultur.
Akademie der Wissenschaften und der Literatur. Abhandlungen der mathematisch-naturwissenschaftl. Klasse. 1, Wiesbaden

Palade, G.E. 1952
A study of fixation for electronic microscope.
J. Exp. Med. 95, 285

Park, H.D. and Ortmeyer, A.B. 1962
Some effects of temperature on growth and sexual differentiation in Hydra littoralis.
Am. Zool. 2, 546

Reimer, L. 1967
Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden.
Berlin, Heidelberg, New York, 2. Aufl., 415

Schaller, C. 1973
Isolation and characterization of a low-molecular-weight substance activating head and bud formation in hydra.
J. Embryol. exp. Morph. 29, 27

Schaller, H. and Gierer, A. 1973
Distribution of the head-activating substance in hydra and its localization in membranous particles in nerve cells.
J. Embryol. exp. Morph. 29, 39

Schulze, P. 1914
Bestimmungstabelle der deutschen Hydra Arten.
Sitzungsber. Ges. naturforsch. Freunde Berlin 9, 395

Semal-Van Gansen, P. 1954
L'histophysiologie de l'endoderm de l'hydre d'eau douce.
Ann. Soc. Zool. Belg. 85, 217

Shostak, S. 1972
Inhibitory gradients of head and foot regeneration in Hydra viridis.
Develop. Biol. 28, 620

Shostak, S. 1973
Evidence of morphogeneticalli significant diffusion gradients in Hydra viridis lengthened by grafting.
J. Embryol. exp. Morph. 29, 311

Shostak, S., Pabel, N.G. and Burnett, A.L. 1965
The role of mesoglea in mass cell movement in Hydra.
Develop. Biol. 12, 434

Slautterback, D. and Fawcett, D. 1959
The development of the cnidoblasts in Hydra.
An electron microscope study of cell differentiation.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 5, 441

Steche, O. 1911
Hydra und die Hydroiden.
Monographien einheimischer Tiere III, Leipzig

Swanson, C.P. 1957
Cytology and Cytogenetics.
New Jersey

Tardent, P. 1966
Hydra attenuata (Pall).
Rev. Suisse Zool. 73, 357

Tardent, P., Leutert, R. und Frei, E. 1968
Untersuchungen zur Taxonomie von Hydra circumcincta Schulze 1914, Hydra stellata Schulze 1914 und Hydra ovata Becker 1920.
Rev. Suisse Zool. 75, 983

Tardent, P. und Morgenthaler, U. 1966
Autoradiographische Untersuchungen zum Problem der Zellwanderungen bei Hydra attenuata.
Rev. Suisse Zool. 73, 468

Trembley, A. 1744
Mémoires pour servir a l'histoire d'un genre de Polype d'eau douce.
Paris
Zit. n. Downing, E.R. 1905

Tripp, K. 1928
Die Regenerationsfähigkeit von Hydren in verschiedenen Körperregionen in Regenerations- und Transplantationsversuchen.
Z. wiss. Zool. 132, 476

Webster, G. 1971
Morphogenesis and pattern formation in hydroids.
Biol. Rev. 46, 1

Whitney, D.D. 1907
The influence of external factors in causing the development of sexual organs in Hydra viridis.
Wilh. Rous' Arch. f. Entw. Mech. Org. 24, 524

Whitney, D.D. 1908
Further studies on the elimination of the green bodies from the endoderm cells of Hydra viridis.
Biol. Bull. 15, 241

Wiese, L. 1953
Geschlechtsverhältnisse und Geschlechtsbestimmung bei Süßwasserhydroiden.
Zool. Jahrb. Abt. Zool. 64, 55

Wolpert, L. 1971
Positional information and pattern formation.
In: Moscona, A.A. and Monroy, A. (eds.): Curr. Top. Develop. Biol. 6, 183

Wolpert, L.; Clarke, M.R.B. and Hornbruch, A. 1972
Positional signalling along Hydra.
Nature, New Biol. 239, 101

Lebenslauf

Geboren am 17.10.1945 in Göttingen

1956-1966 Besuch des Gymnasiums in Einbeck/Han. und in Northeim/Han., dort im Februar 1966 Abitur.

Studium der Biolgie und Chemie an der Georg-August-Universität in Göttingen von 1966 bis 1969.

Die vorliegende Arbeit begann ich 1970 am Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abteilung Molekulare Biologie in Göttingen (Leitung Prof. Dr. G.v. Ehrenstein).

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. W. Ostertag für wissenschaftliche Anleitung und kameradschaftliche Diskussion.

Herrn L. Adil-Awni danke ich für ausdauernde und hervorragende technische Hilfe.